





**Sveučilište u Zagrebu**

Stomatološki fakultet

Iva Bešlić

**POVEZANOST KONCENTRACIJE  
SALIVARNOGA MELATONINA,  
KVALITETE SNA I KVALITETE ŽIVOTA S  
TEŽINOM KLINIČKE SLIKE KRONIČNE  
SPONTANE URTIKARIJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



**Sveučilište u Zagrebu**

Stomatološki fakultet

Iva Bešlić

**POVEZANOST KONCENTRACIJE  
SALIVARNOGA MELATONINA,  
KVALITETE SNA I KVALITETE ŽIVOTA S  
TEŽINOM KLINIČKE SLIKE KRONIČNE  
SPONTANE URTIKARIJE**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

Prof. dr. sc. Liborija Lugović Mihić

Zagreb, 2022.



**University of Zagreb**  
School of Dental Medicine

Iva Bešlić

**SALIVARY MELATONIN LEVELS IN  
CORRELATION WITH SLEEP QUALITY,  
QUALITY OF LIFE AND CLINICAL  
FEATURES IN PATIENTS WITH CHRONIC  
SPONTANEOUS  
URTICARIA**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: Professor Liborija Lugović Mihić, PhD

Zagreb, 2022

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr, sc. Liboriji Lugović Mihić na uvodu u svijet znanosti iz područja dermatologije, na idejama, neiscrpnj pomoći i mnogobrojnim savjetima bez kojih ovaj rad ne bio moguć.*

*Zahvaljujem magistru Alenu Vrtariću koji mi je pomogao u laboratorijskom dijelu istraživanja. Također zahvaljujem profesoru Stjepanu Špalju na statističkoj analizi podataka.*

*Zahvaljujem svojim roditeljima, Slavku, Kseniji i svojoj sestri Luciji, kao i Antinim roditeljima Dragi i Ani na nesebičnoj podršci i poticanju u daljnjem znanstvenom radu.*

*Također zahvaljujem svim sudionicima ovog istraživanja, kolegama i suradnicima koji su pomogli u izvedbi ovog rada.*

*Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji, malenoj Viti, koja je podnijela najveću žrtvu maminog rada i suprugu Anti, na neizmjerne podršci i razumijevanju.*

Istraživanje je provedeno na Klinici za dermatovenerologiju KBC-a Sestre milosrdnice i na Zavodu za oralnu patologiju KBC-a Zagreb. Obrada i laboratorijska analiza uzoraka provedena je na Zavodu za kliničku kemiju KBC-a Sestre milosrdnice.

**Lektorica hrvatskog jezika:** Ana Lojen, prof. hrvatskog jezika i književnosti

**Lektor engleskog jezika:** Ivan Pačlik, prof. engleskog jezika

Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:

Datum obrane rada: 12.prosinca 2022.

Rad sadrži: 116 stranica

38 slika

14 tablica

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je samostalno napisano u cijelosti uz naznaku izvora drugih autora i njihovih radova korištenih u izradi ovog rada. Ukoliko nije drukčije navedeno, sve ilustracije u radu su izvorni doprinos autora ovog poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za privolu i dopuštenje za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija ili propusta u navođenju njihovog izvora.

## Sažetak

**Uvod:** U većine bolesnika s kroničnom spontanom urtikarijom (KSU), veliki problem predstavlja svrbež koji se učestalije javlja u večernjim i noćnim satima što uzrokuje poteškoće sa spavanjem. Za postizanje dobre kvalitete sna (KS) je ključan melatonin, hormon koji sudjeluje u započinjanju i održavanju ciklusa spavanja te je izuzetno bitna njegova adekvatna proizvodnja. Cilj ovog istraživanja je bio ispitati vrijednosti salivarnoga melatonina te povezanost težine bolesti i poremećaja kvalitete života (KŽ) i KS u tih bolesnika.

**Metodologija:** U 38 bolesnika s KSU-om i 38 ispitanika kontrolne skupine određivan je salivarni melatonin (ELISA), KŽ (“Dermatology Quality of Life”) i KS (“Pittsburgh Sleep Quality Index”), a u bolesnika s KSU-om je dodatno određivana težina (“Urticaria Activity Score”) i kontrola bolesti (“Urticaria Control Test”).

**Rezultati:** Sniženi salivarni melatonin je uočen u 34/38 bolesnika s KSU. Teški oblik urtikarije imalo je 12/38 ispitanika, a značajno narušenu KŽ 8/38 bolesnika. Težina urtikarije je linearno proporcionalno povezana s KŽ i KS u tih bolesnika, uz jaku korelaciju s KŽ i slabu korelaciju s KS, dok koncentracija salivarnoga melatonina nije povezana ni s KS ni s KŽ.

**Zaključak:** Ovo su prvi literaturni podaci u svijetu o sniženim vrijednostima melatonina, salivarnog biomarkera poremećaja spavanja, u bolesnika s KSU-om.

Ključne riječi: kronična spontana urtikarija, melatonin, salivarni melatonin, poremećaji spavanja, salivarni biomarker

## Summary

**Introduction:** For the majority of patients with chronic spontaneous urticaria (CSU), a big problem is the nocturnal itch, which leads to sleep disturbance. Melatonin regulates promoting and maintaining the sleep cycle and its adequate production is crucial for good sleep quality (SQ). The aim of this study was to examine salivary melatonin and the association between disease severity, quality of life (QoL) and SQ in these patients.

**Methodology:** Salivary melatonin (ELISA), QoL (“Dermatology Quality of Life”) and SQ (“Pittsburgh Sleep Quality Index “) were determined in 38 patients with CSU and 38 healthy subjects. In patients with CSU, the severity of the urticaria (“Urticaria Activity Score”) and the disease control (“Urticaria Control Test”) were additionally determined.

**Results:** Decreased salivary melatonin was observed in 34/38 patients with CSU. Severe form of urticaria was detected in 12/38 patients and QoL was significantly impaired in 8/38 patients. The severity of urticaria was linearly proportional to QoL and SQ in these patients, with a strong correlation with QoL and a weak correlation with SQ, while the salivary melatonin was not related to QoL nor SQ.

**Conclusion:** These are the first literature data in the world indicating decreased levels of the salivary melatonin in patients with CSU.

**Key words:** chronic spontaneous urticaria, melatonin, salivary melatonin, sleep disturbances, salivary biomarker



## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1.KLASIFIKACIJA URTIKARIJE I DEFINICIJA KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE.....	1
1.2. PATOFIZIOLOGIJA KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE .....	3
1.3.KLINIČKA SLIKA KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE .....	6
1.4.DIJAGNOSTIČKI POSTUPAK I DIFERENCIJALNE DIJAGNOZE KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE .....	8
1.5.LIJEČENJE KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE .....	12
1.6.PSIHOLOŠKE KARAKTERISTIKE BOLESNIKA I NAJČEŠĆI PSIHIČKI POREMEĆAJI BOLESNIKA S KRONIČNOM SPONTANOM URTIKARIJOM .....	16
1.7.POREMEĆAJI SPAVANJA I ULOGA MELATONINA.....	19
1.8.FARMAKOLOŠKI ZNAČAJ MELATONINA .....	23
1.9.ZNAČAJ MELATONINA S DERMATOLOŠKOG ASPEKTA .....	25
1.10.MELATONIN KAO DODATNA TERAPIJSKA OPCIJA U DERMATOLOŠKIH BOLESNIKA .....	27
1.11. MJERENJE MELATONINA U DERMATOLOŠKIM BOLESTIMA .....	29
1.12. SLINA, SALIVARNA DIJAGNOSTIKA I MJERENJE SALIVARNOGA MELATONINA .....	30
<b>2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	34
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	34
3. 1. ISPITANICI .....	34
3. 2. MATERIJALI I METODE .....	36
3.2.1. Uzorkovanje sline .....	36
3.2.2. Upitnici za procjenu težine i aktivnosti KSU, kontrole bolesti, dermatološke kvalitete života i kvalitete sna .....	38
3.2.3. Određivanje salivarnoga melatonina ELISA testom .....	39
3.2.4. Statističke metode .....	42

<b>4. REZULTATI</b> .....	43
<b>5. RASPRAVA</b> .....	73
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	86
<b>7. LITERATURA</b> .....	87
<b>8. PRILOZI</b> .....	99
<b>9. ŽIVOTOPIS</b> .....	111

## POPIS KRATICA

AHI	indeks apneje-hipopneje
anti-FcεRI	anti-FcepsilonRI protutijelo
ANA	<i>antinuclear antibody</i>
antiTG	tireoglobulinsko protutijelo
AntiTPO	protutijelo na tireoidnu peroksidazu
Ca125	<i>cancer antigen 125</i>
CU-QoL	<i>Chronic urticaria–quality of life</i>
Cyfra 21-1	<i>Cytokeratin 19 Fragment</i>
DLQI	<i>Dermatology quality of life</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ENA	<i>an extractable nuclear antigen</i>
ESS	<i>Epworth Sleepiness Scale</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ft4	<i>free T4</i>
GUK	glukoza u krvi
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
IFN	interferon
IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IL	interleukin
KSU	kronična spontana urtikarija
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
PGD2	prostaglandin D2
PSQI	<i>Pittsburgh Sleep Quality Index</i>
SCORAD	<i>scoring Atopic dermatitis</i>
TSH	<i>thyroid-stimulating hormone</i>

UAS7 *Urticaria Activity Score*

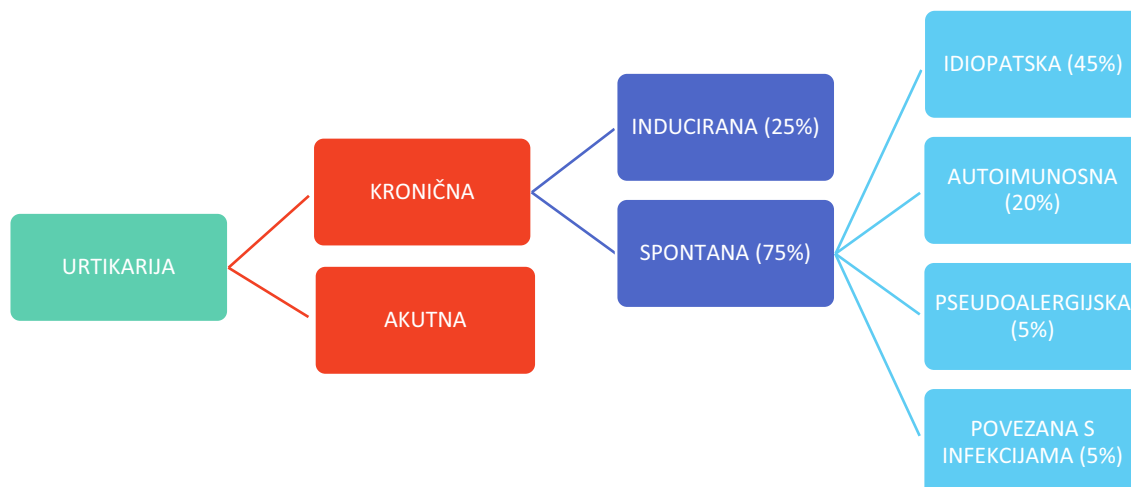
UCT *Urticaria Control Test*

## 1. UVOD

### 1.1. KLASIFIKACIJA URTIKARIJE I DEFINICIJA KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE

Urtikarija je bolest kože za koju je karakteristična pojava urtika i angioedema, koji su često praćeni intenzivnim subjektivnim osjećajem svrbeža. Jedna je od najčešćih bolesti s kojom se dermatolozi susreću u radu. Pojavljuje se u oko 1% svjetske populacije, najčešće u odrasloj dobi (1). Etiopatogeneza urtikarije je složena, a etiološki i provocirajući čimbenici su brojni, što često dovodi do terapijskih poteškoća u kliničkom radu. Prevalencija za pojavu bilo koje vrste urtikarije tijekom života iznosi oko 20% (1). Prema kliničkoj slici, znakovima i simptomima, urtikarija može varirati od jednostavne do vrlo komplicirane i iscrpljujuće bolesti. Urtikarija je najčešće uzrokovana alergijskim reakcijama, ali može biti uzrokovana i mnogim nealergijskim čimbenicima i mehanizmima (2).

Prema duljini trajanja, urtikarija se može podijeliti na akutnu i kroničnu. Akutna urtikarija definirana je pojavom urtika (samostalno ili u kombinaciji s angioedemom) u vremenskom periodu kraćem od šest tjedana, praćenih intenzivnim subjektivnim osjećajem svrbeža (3). To je najčešći oblik urtikarije koji obično regredira nakon nekoliko dana primjene odgovarajuće terapije. Uzroci akutne urtikarije utvrđeni su u svega 50% bolesnika, a među najčešćima su lijekovi, reakcije na hranu i infekcije gornjih dišnih puteva (4). Kronična urtikarija definira se pojavom urtika (samostalno ili u kombinaciji s angioedemom) u vremenskom periodu duljem od šest tjedana, praćenih intenzivnim subjektivnim osjećajem svrbeža (3). S obzirom na identifikaciju uzroka ili okidača, kronična urtikarija se može klasificirati kao inducirana ili spontana. Najčešći uzroci inducirane urtikarije su: toplina, hladnoća, pritisak na kožu, vježbanje, voda, vibracije i sunčeva svjetlost. No, među svim oblicima kronične urtikarije, najčešća je kronična spontana urtikarija (KSU) koja označava urtikariju nepoznata uzroka ili okidača. Također se navodi i podjela kronične urtikarije prema etiološkoj podlozi, prema kojoj se kronična urtikarija može podijeliti na: idiopatsku, autoimunosnu, pseudoalergijsku i urtikariju povezanu s infekcijama (sl. 1) (5).



Slika 1. Podjela kronične urtikarije - po uzoru na (5).

Prevalencija KSU-e u općoj populaciji iznosi oko 1-2%, može se pojaviti u odrasloj i dječjoj populaciji, ali ipak češće se javlja u odraslih (6). Prema spolu, KSU češće se javlja u žena, u kojih je dvostruko češća pojava u odnosu na muškarce. Prema dobi, početak pojave simptoma najčešći je između 20. i 40. godine života (7). Prosječno trajanje KSU-e iznosi dvije do pet godina, no u 20% bolesnika ona traje i dulje od pet godina (7). Praćenje bolesnika pokazalo je da se u približno 50% bolesnika spontana remisija bolesti javlja u prva tri mjeseca bolesti (8).

Klinička slika urtikarije je tipična i karakterizirana je pojavom urtika i angioedema. Izolirana urtikarija bez pojave angioedema javlja se u 50% bolesnika, urtikarija praćena angioedemom u 40% bolesnika, a izolirani angioedem samo u 10% bolesnika (5).

Dijagnoza KSU-e temelji se na kliničkom prikazu, isključenju drugih oblika urtikarije i osnovnim laboratorijskim pretragama (diferencijalna krvna slika, sedimentacija ili C-reaktivni protein, vrijednost ukupnog IgE, IgG anti-TPO), no često se mogući uzroci i okidači identificiraju i širom dijagnostičkom obradom (3).

Uz to, KSU je ujedno bolest koja je često praćena različitim komorbiditetima. Najčešće su to atopijske bolesti, autoimunosni poremećaji, infekcije i psihički poremećaji (9). Prema velikoj kohortnoj studiji (provedenoj u Izraelu) koja je obuhvaćala više od milijun adolescenata uočeno

je da postoji snažna povezanost KSU-e i atopijskih bolesti, poput alergije na hranu, alergijskog rinitisa, kroničnog rinosinuitisa, atopijskog dermatitisa i alergijske astme (9).

Osim povezanih atopijskih bolesti, pridruženi su i brojni autoimunosni poremećaji. Najčešće su to: poremećaji štitnjače, celijakija, Sjögrenov sindrom, sistemski lupus, reumatoidni artritis i dijabetes melitus tipa I (6,11). Postoji i mogućnost postojanja različitih infekcija koje provociraju izbijanje urtika. Najčešće su to: *Helicobacter pylori*, streptokoki, stafilokoki, *Yersinia*, *Giardia lamblia*, *Mycoplasma pneumoniae*, virusi hepatitisa, norovirus, parvovirus B19 te paraziti poput *Entamoeba spp.* i *Blastocystis spp.* (3,6,10,12).

Povezanost KSU-e i malignih bolesti još uvijek je nepoznata, iako postoje znanstveni radovi o tome. Smjernice ne preporučuju rutinski probir za maligne bolesti u bolesnika, osim ako postoje određeni indikativni klinički znaci i simptomi ili podaci iz anamneze koji pobuđuju sumnju na postojanje maligniteta (13).

S obzirom na dugo trajanje bolesti, nemogućnost identifikacije uzroka ili okidača bolesti te rezistencije na terapijske mogućnosti, KSU je jedna od dermatoloških bolesti koja uvelike utječe na kvalitetu života bolesnika, narušava njihov svakodnevni život i mijenja njihov psihološki status. Stoga ne začuđuje podatak da je urtikarija jedna od dermatoloških bolesti s najvećim brojem psihijatrijskih komorbiditeta (14).

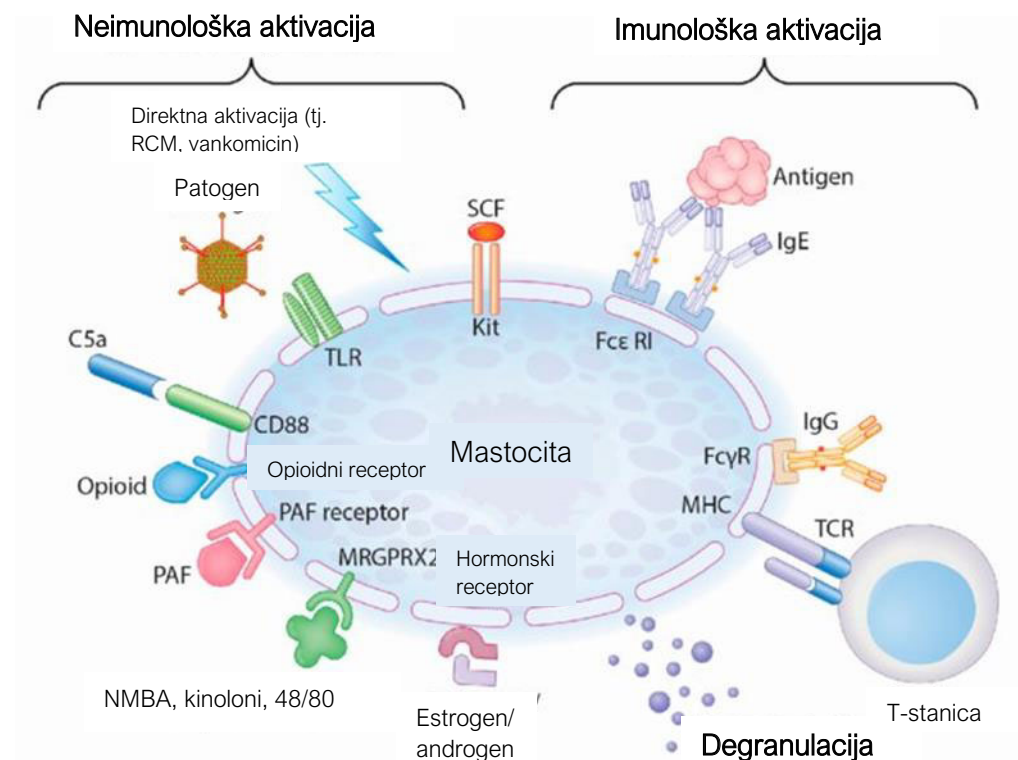
Naposljetku, zbog svih navedenih činjenica, KSU je bolest koja ima i socioekonomski značaj zbog utjecaja na smanjenje radne produktivnosti (13).

Cilj uspješnog liječenja KSU-e je potpuna kontrola bolesti i odsutnost njezinih znakova i simptoma, što se u većine bolesnika postiže profilaktičkim liječenjem do spontane remisije (3). Prema najnovijim smjericama, u liječenju urtikarije prvenstveno se koriste H1 antihistaminici (uglavnom 2. generacije). U slučaju perzistencije, sljedeća terapijska opcija je omalizumab, anti-IgE protutijelo, a posljednja terapijska opcija je ciklosporin (3,8).

## **1.2. PATOFIZIOLOGIJA KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE**

Glavna obilježja KSU-e su izražen subjektivni osjećaj svrbeža te pojava urtika i angioedema, koji su rezultat degranulacije mastocita u koži. Nakon degranulacije mastocita, oslobađaju se histamin, proteaze i citokini, kao i čimbenici koji aktiviraju trombocite i druge metabolite arahidonske kiseline [prostaglandin D2 (PGD2) i leukotriene (C4, D4 i E4)] (6,15). Histamin je glavni

medijator odgovoran za pojavu intenzivnog osjećaja svrbeža, pratećeg subjektivnog simptoma urtikarije (15). Tvari koje uzrokuju degranulaciju mastocita i potiču pojavu urtika mogu se podijeliti na one koje potiču imunosna zbivanja i na one koje potiču neimunosna zbivanja (5). Tvari koje potiču imunosna zbivanja su: alergeni, anti-FcεRI, IgE i anti-IgE, a tvari koje potiču neimunosna zbivanja su: tvar P, čimbenik matičnih stanica, C5a i kodein (sl. 2) (5).



Slika 2. Degranulacija mastocita – preuzeto iz (16).

Za patogenezu KSU-e su predložena dva glavna mehanizma. Prvi uključuje poremećaj regulacije intracelularnih signalnih puteva unutar mastocita i bazofila, što dovodi do poremećenog kretanja ili funkcije tih stanica (17). Drugi mehanizam uključuje razvoj protutijela usmjerenih prema FcεRIα ili IgE na mastocitima i bazofilima (17). Prema prvom navedenom mehanizmu, disregulacija intracelularnih puteva dovodi do patološke aktivacije mastocita i bazofila, dok prema autoimunosnoj teoriji dolazi do nastanka cirkulirajućih IgG protutijela usmjerenih prema IgE i prema visoko afinitetnom IgE receptoru FcεR1 koji su odgovorni za degranulaciju mastocita i bazofila. Pritom se smatra da vezanje protutijela za mastocite potiče aktivaciju komplementa preko C5a anafilotoksina, što također uzrokuje degranulaciju mastocita (17). No, ti signali koji aktiviraju



mastocite kod urtikarije slabo su definirani i vjerojatno su heterogeni i raznoliki. Prethodno navedeni medijatori uzrokuju povećanu vazodilataciju i vaskularnu propusnost s posljedičnim nastankom intersticijalnog edema, kao i senzornu stimulaciju živaca, pridonoseći time nastanku otekline (urtike), eritema i svrbeža (5).

Histološki, urtike karakterizira edem gornjeg i srednjeg dermisa, s dilatacijom i povećanom propusnošću postkapilarnih venula, kao i limfnih žila gornjeg dermisa, što dovodi do istjecanja seruma u tkivo. Kod angioedema uočene su slične promjene, samo se one prvenstveno pojavljuju u donjem dijelu dermisa i u potkožnom tkivu (5,6). Biopsija urtika u KSU-i u dermisu kože pokazuju perivaskularni miješani infiltrat stanica, uključujući bazofile, CD4+ T-limfocite, monocite, neutrofile i eozinofile, kao i povišenu IL-4, IL-5 i IFN-gama staničnu mRNA ekspresiju (18,19,20). Osim toga, u biopsijama urtika je uočen povećan broj citokina koji iniciraju Th2 odgovor, uključujući IL-33, IL-25, stromalni limfopoetin timusa, kalcitonin-genski vezan peptid i vaskularni endotelni čimbenik (u odnosu na biopsije kontrolne skupine i biopsije nepromijenjene kože) (21,22).

Također, smatra se da su i bazofili uključeni u patogenezu KSU-e. Bazofili imaju površinski FcεRI koji veže IgE, a vezanje IgE-a na bazofile potiče aktivaciju navedenog receptora (22). Bazopenija je jedinstveno odstupanje u krvnoj slici koje je identificirano u bolesnika s aktivnom kroničnom urtikarijom. Uzrok bazopenije je nepoznat, iako se pretpostavlja da je ona rezultat migracije bazofila iz krvi u kožne lezije (23,24). Teži oblik bazopenije javlja se kod teže kliničke slike kronične urtikarije i viših rezultata aktivnosti urtikarije [mjerenih pomoću *Urticaria Activity Score-a* (UAS)]. Uočeno je da s regresijom bolesti, bazopenija nestaje (23,24). Tako je post-hoc analizom treće faze ispitivanja terapije omalizumabom u bolesnika s KSU-om uočeno smanjenje bazopenije povezano s kliničkim poboljšanjem i ovisno o primijenjenoj dozi omalizumaba (25). Uključenost bazofila u patogenezi KSU-e je dodatno potvrđeno povećanjem izlučivanja histamina iz bazofila, koje je posredovano IgE receptorima i zapaženo je u aktivnom obliku bolesti. Prema sveukupnim dostupnim spoznajama, čini se da su mastociti i bazofili dominantne stanice uključene u patofiziologiju KSU-e. Svi navedeni rezultati naglašavaju kompleksnost patogeneze KSU-e (25). Međutim, neke od ovih značajki urtikarije mogu se vidjeti i u drugim upalnim stanjima kože, stoga one nisu specifične za KSU-u niti imaju dijagnostičku vrijednost. S obzirom da dosad nisu utvrđeni specifični histološki biomarkeri za različite podtipove urtikarije i za razlikovanje urtikarije od

drugih upalnih dermatoz, postoji prostor za nova istraživanja koja će pridonijeti boljem razumijevanju patogeneze KSU-e (3).

### 1.3. KLINIČKA SLIKA KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE

Glavna obilježja urtikarije su jedinstvene morfe, urtike, koje su praćene intenzivnim osjećajem svrbeža. Uz pojavu urtika ili samostalno, moguća je i pojava angioedema, koji je češće praćen osjećajem bolnosti nego svrbežom (3).

Urtike se definiraju kao elevirane morfe, karakterizirane središnjim oticanjem, različite veličine, okružene eritemom i praćene intenzivnim subjektivnim osjećajem svrbeža. Rezultat su nastanka edema u gornjem dijelu dermisa. Brzo nastaju i nestaju, a nakon njihova nestanka koža poprima normalan izgled. Obično traju između 30 minuta i 24 sata (3). Mogu biti okruglog, anularnog ili serpiginoznog oblika i mogu se pojaviti na bilo kojem području tijela. Bolesnici koji imaju udružen intenzivan osjećaj svrbeža često se grebu, što dovodi do nastanka sekundarnih morfi, poput ekskorijacija, površinskih erozija i krusta (sl. 3) (3,4).



**Slika 3. Urtike**

Angioedem se definira kao iznenadno oticanje kože ili sluznice, koje je rezultat edema donjeg dijela dermisa, potkožnog tkiva ili sluznice. Češće je praćen osjećajem bolnosti, nego svrbežom. Za razliku od urtika, angioedem sporije nestaje i ponekad je potrebno i do 72 sata kako bi došlo

do regresije angioedema (3). Najčešće se javlja asimetrično, a zahvaća usnice, obraze, periorbitalnu regiju, udove i genitalnu regiju (sl. 4) (3,4).



Slika 4. Angioedem

Svrbež je glavni subjektivni simptom urtikarije koji se definira kao subjektivna i neugodna senzacija koja rezultira grebanjem kože. U većine bolesnika s KSU-om svrbež se učestalije javlja u večernjim satima i noću, zbog čega dolazi do razvoja poteškoća sa spavanjem. Svrbež se javlja na svim područjima tijela, ali najviše su zahvaćeni udovi i leđa. Osjećaj svrbeža najčešće ima karakteristike peckanja i škakljanja (26). U bolesnika s KSU-om je često uočena povezanost intenziteta svrbeža s emocionalnim stresom (27). Budući da stres aktivira autonomni živčani sustav i snižava prag svrbeža, što potvrđuje da svrbež može biti uvjetovan i psihološkim čimbenicima poput stresa (osim samim promjenama kože) (28). Provedena istraživanja također su pokazala da je osjećaj svrbeža teže podnošljiv za bolesnike od osjećaja boli (29). U konačnici, svrbež je jedan od najznačajnijih čimbenika koji negativno utječe na kvalitetu života bolesnika s KSU-om i remeti njihove svakodnevne aktivnosti (30,31).

#### **1.4. DIJAGNOSTIČKI POSTUPAK I DIFERENCIJALNE DIJAGNOZE KSU-e**

Dijagnostički postupak u bolesnika s KSU-om ima tri glavna cilja: isključiti diferencijalne dijagnoze, procijeniti aktivnost bolesti, utjecaj bolesti na kvalitetu života i kontrolu bolesti, te identificirati provocirajuće čimbenike ili uzroke (3).

Dijagnoza KSU-e se postavlja nalazom urtika na koži koje traju kraće od 24 sata i javljaju se bez jasno identificiranog uzroka ili okidača za njihovu pojavu, a pojavljuju se u vremenskom razdoblju duljem od šest tjedana. Ukoliko urtike traju dulje od 24 sata, potrebno je učiniti biopsiju promjene na koži radi patohistološke analize i direktne imunofluorescencije.

Detaljna anamneza i fizikalni pregled ključni su i neophodni alati u postavljanju dijagnoze.

Uzimanje anamneze treba uključivati podatke o učestalosti izbijanja urtika, o okolnostima početka pojave urtikarije, potencijalnim provocirajućim čimbenicima, trajanju pojedinačnih urtika, njihovoj veličini, obliku i distribuciji, postojanju pridružene pojave angioedema, učestalosti recidiva, pratećim subjektivnim simptomima (svrbežu ili bolnosti) te pojavi pratećih općih simptoma, o obiteljskoj i osobnoj sklonosti za atopijsku dijatezu, postojanju psiholoških smetnji ili psihičkih poremećaja, postojanju alergija, infekcija, sustavnih bolesti, o mogućem pogoršanju urtika uslijed fizikalnih čimbenika ili vježbanja, potom detaljne podatke o uzimanju lijekova, funkcijama i navikama (pušenju, menstrualnom ciklusu i trudnoći), podatke o zanimanju, hobijima, nedavnim putovanjima te o samoj percepciji stresa tijekom bolesti, kao i o ukupnom utjecaju bolesti na kvalitetu života i psihološkom statusu bolesnika (tbl. 1) (32). Također, među najbitnijim podacima u dijagnostičkom i terapijskom postupku su podaci o dosadašnjem uzimanju preporučene terapije za KSU-u i njejoj učinkovitosti, u odnosu na učestalost recidiva bolesti (32).

Tablica 1. Preporučeni anamnestički podaci za bolesnike s KSU-om

1. Početak pojave bolesti
2. Učestalost izbijanja i trajanje pojedinih urtika
3. Moguća identifikacija provocirajućih čimbenika
4. Vrijeme izbijanje urtika tijekom dana
5. Vrijeme izbijanja urtika tijekom radnih dana, vikenda, putovanja
6. Oblik, veličina i distribucija urtika
7. Postojanje pridruženog angioedema
8. Postojanje subjektivnih simptoma, svrbeža ili bolnosti
9. Obiteljska i osobna anamneza vezana uz urtikariju i atopiju
10. Prethodne ili sadašnje alergije, infekcije, sustavne bolesti ili neki drugi mogući uzoci pojave
11. Psihosomatske i psihijatrijske bolesti
12. Kirurški implantati i eventualni neželjeni događaji tijekom operativnog zahvata ili davanja lokalne anestezije
13. Probavne i crijevne tegobe
14. Pojava urtika provocirana fizikalnim čimbenikom ili vježbanjem
15. Primjena lijekova (npr. nesteroidnih protuupalnih lijekova, cjepiva, hormona, laksativa, kapi za uši ili oči...)
16. Povezanost s hranom
17. Povezanost s menstrualnim ciklusom
18. Pušenje
19. Zanimanje i poslovi koje bolesnik obavlja
20. Hobiji
21. Stres
22. Kvaliteta života i utjecaj urtikarije na emocionalno stanje pojedinca
23. Prethodna terapija i odgovor na terapiju

\*Podaci iz *European Academy of Allergy and Clinical Immunology/Global Allergy and Asthma European Network/ European Dermatology Forum/World Allergy Organization 2013 Urticaria guideline*. Preuzeto iz (32).

Aktivnost i težina KSU-e u najvećem je broju istraživanja praćena standardiziranim upitnikom koji se naziva “*Urticaria Activity Score*” (UAS7), instrumentom koji kvantificira broj urtika i intenzitet svrbeža praćenih tijekom sedam dana (tbl. 2, prilog 3) (32,33,34). U navedenom upitniku se tijekom jednog dana može skupiti raspon bodova od nula do šest, koji su rezultat zbroja broja urtika (0=bez urtika, 1=1-6 urtika, 2=7-12 urtika, 3= više od 12 urtika) i intenziteta svrbeža

(0=nema svrbeža, 1=blagi svrbež, 2=umjereni svrbež, 3=jaki svrbež). Maksimalan broj bodova koji se može postići nakon tjednog praćenja iznosi 42 i on ukazuje na tešku kliničku sliku urtikarije (33). Istovjetna varijanta ovog upitnika postoji i za pojavu angioedema (35).

Tablica 2. Hrvatska inačica *Urticaria Activity Score-a* (UAS7)

<b>Urticaria Activity Score (UAS7)</b>									
DATUM:	DNEVNI BROJ URTIKA				+	DNEVNI INTENZITET SVRBEŽA=UAS			
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =
	0	1	2	3	+	0	1	2	3 =

0 = bez urtika/bez svrbeža  
 1=1-6 urtika/ blagi svrbež  
 2=7-12 urtika/umjeren svrbež  
 3=više od 12 urtika/snažan svrbež

**Minimalan broj bodova = 0**  
**Maksimalan broj bodova=42**

Ponekad pri fizikalnom dermatološkom pregledu bolesnika, u trenutku pregleda ne postoji jasna klinička slika urtikarije. Tada je bolesnicima moguće označiti pojedine lezije i pratiti njihovo trajanje, što je osobito važno radi isključenja urtikarije vaskulitis. U današnje vrijeme, često je korisna i fotodokumentacija.

Osnovna dijagnostička obrada u KSU-i uključuje osnovne laboratorijske pretrage: diferencijalnu krvnu sliku, sedimentaciju ili C-reaktivni protein, vrijednost ukupnog IgE i antiTPO (3). No, ponekad se primijenjuje i šira dijagnostička obrada bolesnika na temelju anamnestičkih podataka. Proširena dijagnostička obrada uključuje: kompletnu laboratorijsku biokemijsku obradu (ureja, kreatinin, hepatogram, GUK, ukupni proteini, elektroforeza), analizu urina, urinokulturu, mikrobiološku analizu stolice, cervikalne briseve/briseve uretre, analizu antigena *Helicobacter pylori* iz stolice, vrijednost IgE, vrijednosti TSH, fT4, antiTg, briseve ždrijela i nosa, parazitološku obradu, imunološku obradu (ANA, ENA skrining), vrijednosti komplementa C3, C4, C1q, kao i inhibitora C1-esteraze (12, 32).

Kada se potvrdi dijagnoza KSU-e, važno je identificirati potencijalne provocirajuće čimbenike, ukoliko je to uopće moguće. Detaljna anamneza ključna je u utvrđivanju postojanja infekcije, uzimanja određenog lijeka kao mogućeg uzroka izbijanja urtika ili fizikalnog uzroka. Za potvrđivanje dijagnoze kronične inducirane urtikarije, koristi se provokacijski test (17, 36). Biopsija promjene kože ponekad može biti korisna, ukoliko se postavi sumnja na postojanje sustavne bolesti poput vaskulitisa ili mastocitoze.

Najvažnije diferencijalne dijagnoze KSU-e uključuju:

- induciranu urtikariju (u obradi je potrebna identifikacija provocirajućeg čimbenika koji uzrokuje pojavu urtika ili angioedema)
- urtikarija vaskulitis (ako urtike perzistiraju dulje od 24 sata, indicirana je biopsija promjene kože s patohistološkom analizom radi verifikacija znakova vaskulitisa i direktna imunofluorescencija)
- mastocitozu
- hipereozinofilni sindrom
- hereditarni angioedem (procjena inhibitora C1 esteraze)
- Schnitzlerov sindrom, Gleichov sindrom, sindrom povezan s poremećajima krioglobulina i dr. (postojanje općih simptoma poput vrućice, umora, bolova u zglobovima i kostima) (6, 37).

## 1.5. LIJEČENJE KRONIČNE SPONTANE URTIKARIJE

Prvi korak u liječenju KSU-e je izbjegavanje provocirajućih čimbenika, a sljedeći korak je primjena lijekova koji kontroliraju simptome i znakove KSU-e, uz minimalne nuspojave. Prema aktualnim svjetskim smjenicama, objavljenima 2022. godine, terapijske opcije za liječenje KSU-e su antihistaminici, omalizumab i imunosupresiv ciklosporin. Međutim, ponekad ove opcije nisu dovoljne u kontroli bolesti pa se stoga istražuju dodatne terapijske opcije.

Kod odlučivanja o liječenju urtikarije, neophodni su procjena težine i aktivnosti bolesti, kvalitete života i kontrole bolesti jer omogućuju bolji uvid u bolesnikovu percepciju bolesti (3). Glavni cilj liječenja KSU-e je ukloniti simptome, koji uključuju pojavu urtika i/ili angioedema te osjećaj svrbeža. Radi uvida u kontrolu bolesti nakon primjene određene terapije, u radu s bolesnicima je osobito koristan *Urticaria Control Test* (UCT), standardizirani upitnik koji ima značajnu primjenu u liječenju urtikarije jer daje informacije o kontroli urtikarije određenom terapijom (tbl. 3, prilog 4) (38).

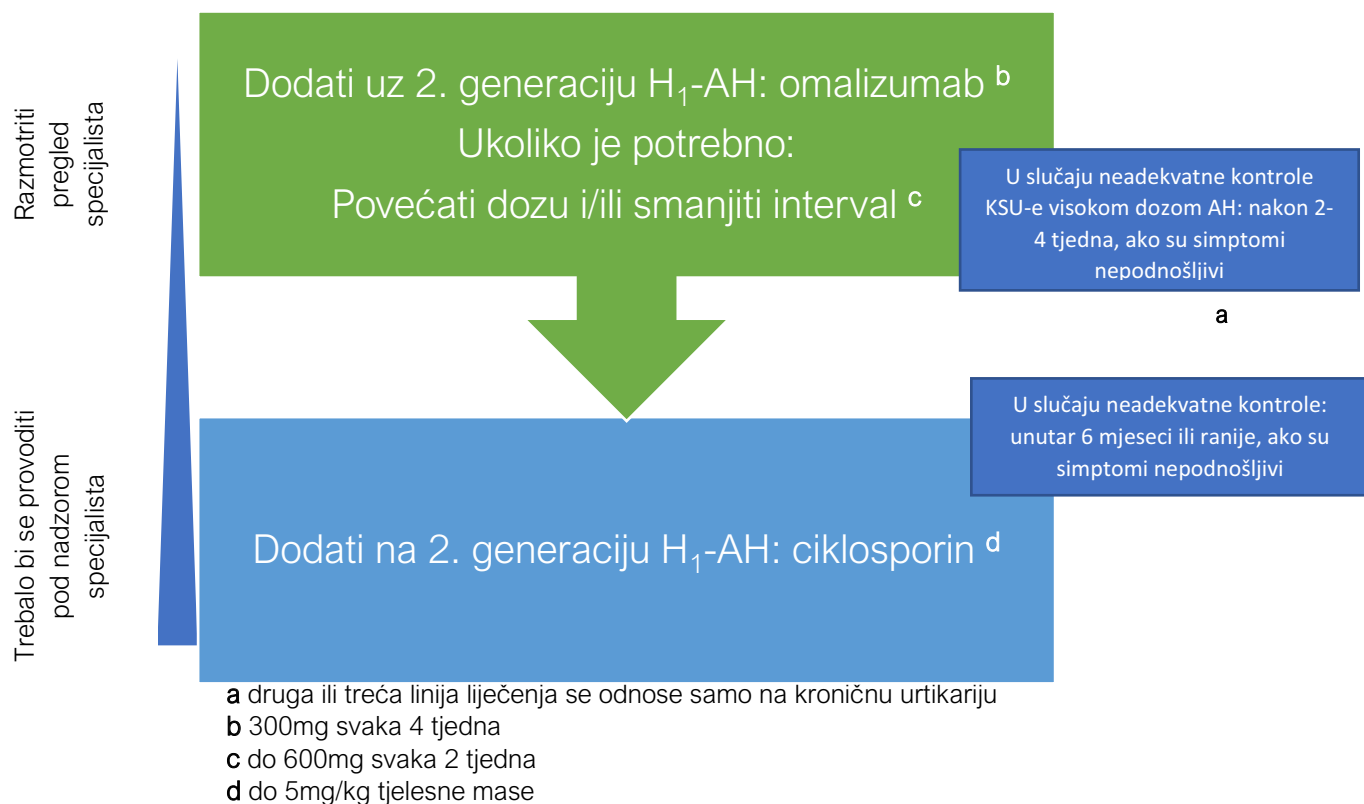
Tablica 3. Hrvatska inačica *Urticaria Control Test-a*

<p>Molimo Vas, ograničite se na vremenski period od 4 tjedna.</p> <p>1.Koliko su Vas smetali simptomi urtikarije (svrbež, urtike i/ili oticanje) u posljednja četiri tjedna?</p> <p>a) Jako puno b) Puno c) Nešto d) Malo e) Uopće me nisu smetali</p> <p>2.Koliko je urtikarija utjecala na Vašu kvalitetu života u posljednja četiri tjedna?</p> <p>a) Jako puno b) Puno c) Nešto d) Malo e) Uopće nije utjecala</p> <p>3.Koliko često Vaša terapija za urtikariju nije bila dovoljna da kontrolira Vaše simptome u posljednja četiri tjedna?</p> <p>a) Vrlo često b) Često c) Ponekad d) Rijetko e) Nikad</p> <p>4. U kojoj mjeri smatrate da je Vaša urtikarija bila pod kontrolom u posljednja četiri tjedna?</p> <p>a) Uopće nije bila pod kontrolom b) Malo c) Ponešto d) Dobro je kontrolirana e) Jako dobro je kontrolirana.</p>
---



Za bolesnike s KSU-om, smjernice izdane od strane *The European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Global Allergy and Asthma European Network, European Dermatology Forum i World Allergy Organization (EAACI/GA2LEN/EDF/WAO)* predstavljaju najnovije terapijske smjernice (sl. 5) (3). Prvu liniju čine H1-antihistaminici druge generacije koji se daju do četiri tablete dnevno (3). Ako simptomi KSU-e i dalje ne regrediraju unatoč četverostrukoj dozi, tada se, uz terapiju H1-antihistaminika druge generacije, u drugoj liniji dodaje omalizumab. U trećoj liniji, u onih bolesnika kod kojih bolest ne reagira ni na terapiju omalizumabom, koristi se ciklosporin, imunosupresiv kod kojeg treba obratiti pozornost na moguće nuspojave (3).

Prema rezultatima metaanalize o primjeni povećane doze H1-antihistaminika u KSU-i, pokazalo se da u 63.8% bolesnika čija bolest nije bila pod kontrolom jednostrukom dozom antihistaminika, kod četverostrukog povećanja doze antihistaminika dolazi do smanjenja simptoma i bolje kontrole bolesti (39). No, pokazalo se da u većeg broja bolesnika, unatoč maksimalnom povećanju doze antihistaminika, i dalje perzistiraju simptomi pa se preporuča prelazak na sljedeću terapijsku opciju, tj. omalizumab. Omalizumab, IgG anti-IgE protutijelo, koje se daje u obliku subkutane injekcije, odobreno je 2014. godine za liječenje bolesnika s KSU-om (starijih od 12 godina) rezistentnih na terapiju antihistaminicima. Daje se u dozama od 150 mg u injektibilnom obliku svaka četiri tjedna ili 300 mg svaka četiri tjedna. Iako je točan mehanizam djelovanja omalizumaba kod KSU-e još uvijek nepoznat, uočeno je da njegovo selektivno vezanje na slobodna IgE-protutijela sprječava vezanje IgE za FcεRI-receptore na mastocitima, bazofilima i ostalim stanicama koje nose FcεRI. Omalizumab se ne veže za IgE-protutijela na površini stanica pa ne može križno vezati i posljedično aktivirati mastocite ili bazofile. Sa smanjenjem koncentracije slobodnih IgE-protutijela, smanjuje se i broj FcεRI-receptora (39, 40). Lijek se dobro podnosi i lako aplicira u liječničkoj ordinaciji.



Algoritam je izglasan nakon završetka svih GRADE pitanja uzimajući u obzir postojeći konsenzus. Odlučeno je da bi se omalizumab trebao uvesti u terapiju prije ciklosporina s obzirom da potonji nije licenciran za liječenje urtikarije i ima niži profil štetnih nuspojava. **Dodatno:** kratka terapija glukokortikosteroidima se može uzeti u obzir u slučaju jačeg pogoršanja.

Shema se temelji na konsenzusu stručnjaka i postigla je 70%-tni dogovor na sastanku konsenzusa.

Slika 5. Terapijski pristup bolesnicima s KSU-om. Preuzeto iz (3).

U Hrvatskoj je potrebno odobrenje Bolničkog povjerenstva za terapiju omalizumabom. Usprkos nepoznanicama vezanima uz mehanizam simptomatskog poboljšanja i samog djelovanja omalizumaba, pokazalo se da određena doza omalizumaba postiže kliničko poboljšanje i stoga predstavlja dokazanu terapijsku alternativu u liječenju KSU-e lijekovima s imunosupresivnim djelovanjem i znatno smanjuje primjenu kortikosteroida (41). Sustavni kortikosteroidi se mogu primijeniti jedino u kraćem periodu u nižim dozama, uz terapiju antihistaminicima u liječenju

akutne faze urtikarije, osobito ako je udružena s pojavom angioedema. Dugotrajna primjena kortikosteroida ne preporučuje se zbog mogućeg razvoja nuspojava (17). Također, iako nije navedeno u smjernicama, rezultati kliničkih studija podupiru daljnje istraživanje montelukasta, inhibitora 5-lipooksigenaze, i njegovu moguću primjenu (kao dodatnog agenta) uz H1-antihistaminike druge generacije u bolesnika s KSU-om kod kojih prevladava angioedem (17). Ciklosporin A također ima izravni učinak na oslobađanje mastocitnih medijatora i pokazao se učinkovitim u liječenju KSU-e, iako se ne može preporučiti kao početna terapijska opcija zbog čestih nuspojava (42). Stoga se ciklosporin A preporučuje samo onim bolesnicima s teškim oblikom KSU-e rezistentne na bilo koju dozu antihistaminika i omalizumaba u kombinaciji. Međutim, ciklosporin A, u usporedbi s kortikosteroidima, ima daleko bolji omjer rizika i koristi, gledajući dugotrajnu primjenu steroida (3). Ostali lijekovi koji se ponekad primjenjuju u liječenju KSU-e, iako nisu navedeni u smjernicama, su: dapson, hidroksiklorokin, sulfasalazin, azatioprin i mikofenolat (17).

Uz navedene lijekove, ističe se nekoliko lijekova koji se intenzivno istražuju: IgG1 anti-IgE monoklonska protutijela (ligelizumab), kemotaktična rektor-homologna molekula izražena na antagonistima Th2 stanica (AZD1981), Bruton inhibitori tirozin kinaze (fenebrutinib), monoklonsko protutijelo anti-siglec-8 (AK002) i lokalni inhibitori tirozin kinaze (GSK2646264) (41, 43).

Ligelizumab je humanizirano IgG1 monoklonalno protutijelo koje se veže za Cε3 domenu IgE-protutijela većim afinitetom od omalizumaba. Prema rezultatima prve faze randomiziranog, dvostruko slijepog i kontroliranog placebom kliničkog ispitivanja, ligelizumab (ovisno o vremenu i dozi) utječe na supresiju slobodnih IgE, bazofilnih FcεRI receptora i IgE na površini bazofila, jače i dulje od omalizumaba (41, 43). Također, gledajući utjecaj na rezultate alergoloških prick testova, ligelizumab u dozi od 2 mg/kg suprimira alergijske reakcije u tim testovima za 95%, dok omalizumab (pri usporedivoj dozi) te iste testove suprimira za 41% (44).

Budući da dostupne terapijske opcije koje su u primjeni još uvijek ne dovode do potpune remisije KSU-e u svih bolesnika, nada se polaže u istraživanja i nove terapijske opcije (17).

## **1.6. PSIHOLOŠKA OBILJEŽJA BOLESNIKA I NAJČEŠĆI PSIHIČKI POREMEĆAJI BOLESNIKA S KRONIČNOM SPONTANOM URTIKARIJOM**

Zbog dugotrajnosti bolesti, učestalosti recidiva, nedovoljno poznate etiopatogeneze te rezistencije na postojeću dostupnu terapiju, KSU značajno utječe na kvalitetu života oboljelih, remeti njihovu svakodnevicu i utječe na njihovo psihičko stanje. Zbog navedenih činjenica, ne iznenađuje spoznaja da je urtikarija jedna od dermatoloških bolesti s najvišom prevalencijom pratećih psihijatrijskih poremećaja (45). Stoga je u radu s bolesnicima, važno imati uvid u njihovu kvalitetu života i psihičko stanje.

Za procjenu i mjerenje zdravstvene kvalitete života oboljelih od kronične urtikarije može se koristiti standardizirani upitnik o kvaliteti života koji se primjenjuje kod svih dermatoloških bolesti *Dermatology quality of life* (DLQI) ili još specifičniji, *Chronic urticaria–quality of life* (CU-QoL), upitnik prilagođen kroničnoj urtikariji (46). Navedeni upitnici obuhvaćaju utjecaj svrbeža, urtika i angioedema na svakodnevni život, mjere utjecaj bolesti na izvršavanje radnih obaveza, bavljenje hobijima i ostalim slobodnim aktivnostima, kao i utjecaj na međusobne odnose s drugim osobama i na kvalitetu spavanja (3).

Osobito korisno se pokazalo međunarodno istraživanje AWARE 2020. u kojem se mjerio utjecaj KSU-e na kvalitetu života praćenjem bolesnika s urtikarijom tijekom dvije godine kojima su identificirani glavni razlozi snažnog utjecaja KSU-e na kvalitetu života (47). To su: učestala pojava urtika i angioedema koji su vidljivi na koži bolesnika, intenzivni osjećaj svrbeža, poremećen san, pojava umora i manjka koncentracije. Ujedno su to i razlozi koji u bolesnika dovode do pojave određenih psihičkih smetnji, u vidu razdražljivosti, nervoze, anksioznosti ili pojačane percepcije stresa (47). Svemu tome pridonosi i činjenica da je KSU dugotrajna bolest kod koje je nemoguće identificirati uzrok i/ili okidač za pojavu promjena kože, a i odgovor na terapiju je često nezadovoljavajući (47). Također, potrebno je uzeti u obzir i činjenicu da je određivanje utjecaja bolesti na kvalitetu života bolesnika vrlo subjektivno. Tako bolesnici s blažom kliničkom slikom mogu doživljavati jako narušenu kvalitetu života, dok bolesnici s težom kliničkom slikom ne moraju nužno imati značajno narušenu kvalitetu života. Osim toga, zamijećena je razlika i u percipiranom stresu u bolesnika s kroničnom urtikarijom, u odnosu na oblik kronične urtikarije. Tako je istraživanje Schuta i suradnika pokazalo da bolesnici s KSU-om imaju značajno veću

aktivnost urtikarije i snažnije percipiraju doživljeni stres od bolesnika s kroničnom induciranom urtikarijom (48).

Gledajući psihička obilježja bolesnika s KSU-om, istraživanja su pokazala da su ti bolesnici češće submisivnog karaktera, s izraženom potrebom traženja krivnje u vanjskim okolnostima i u samom sebi, s anksioznim i depresivnim značajkama (49). Tako su u jednom istraživanju starijeg datuma, Sperber i suradnici pokazali da su bolesnici s KSU-om depresivnog raspoloženja, anksioznih karakteristika, s poteškoćama u stvaranju odnosa s drugima, fokusirani na somatske simptome, a često imaju i opsesivno-kompulzivne značajke (50). Uočeno je da su i često u konfliktu sa svojom okolinom, perfekcionista su, imaju potrebu za potvrdom od drugih, kontrolom nad situacijom i potrebu za ljubavlju (50). Uz navedena ranija zapažanja, uočena je specifična učestalost pojedinih psihičkih poremećaja u tih bolesnika. Tako je metaanaliza objavljena 2019. godine, pokazala da su psihijatrijski poremećaji i bolesti uočeni u oko 32% oboljelih od KSU-e (51). Pritom su najčešći poremećaji spavanja i budnosti (u 36% bolesnika), anksiozni poremećaji (u 30%), poremećaji raspoloženja (29%), poremećaji vezani uz proživljenu traumu i stresore (u 17%), psihosomatski i srodni poremećaji (u 17%), opsesivno-kompulzivni i srodni poremećaji (u 9%) te poremećaji vezani uz psihoaktivne tvari i ovisnosti (u 4%) (tbl. 4) (51).

Tablica 4. Najčešći psihički poremećaji u bolesnika s KSU-om

<ol style="list-style-type: none"><li>1. <u>Poremećaji spavanja ili budnosti</u> - 36%</li><li>2. Anksiozni poremećaji – 30%</li><li>3. Poremećaji raspoloženja – 29%</li><li>4. Posttraumatski stresni poremećaji 17%</li><li>5. Psihosomatski poremećaji – 17%</li><li>6. Opsesivno-kompulzivni poremećaji - 9%</li><li>7. Poremećaji vezani uz konzumaciju psihoaktivnih tvari i ovisnosti – 4%</li></ol>
--

Preuzeto iz (51).

Značajna je i usporedba psihijatrijskih poremećaja u različitim bolestima kože, uključujući i KSU-u. Uspoređujući KSU-u s drugim dermatološkim bolestima, Gupta i suradnici pokazali su da su psihijatrijski poremećaji u oboljelih od KSU-e češći i brojniji u odnosu na bolesnike sa psorijazom ili atopijskim dermatitisom (52). Također su korisni i rezultati istraživanja rizika za pojavu

psihijatrijskih bolesti u bolesnika s KSU-om. Tako je Chu zajedno sa suradnicima ispitivao relativni rizik za razvoj psihijatrijskih bolesti u bolesnika s KSU-om, po kojem je u njih uočen značajno veći rizik za nastanak anksioznih poremećaja, depresije, poremećaja spavanja, pojave ovisnosti o drogama te nastanak disocijativnih i somatoformnih poremećaja (53). Utvrđen je i relativni rizik za pojavu psihijatrijskih poremećaja u bolesnika s KSU-om: 1.43 za bolesnike s blažim oblikom bolesti; 1.50 za bolesnike sa srednje teškim oblikom KSU-e i 2.32 za bolesnike s teškim oblikom KSU-e (u usporedbi s kontrolnom skupinom) (53).

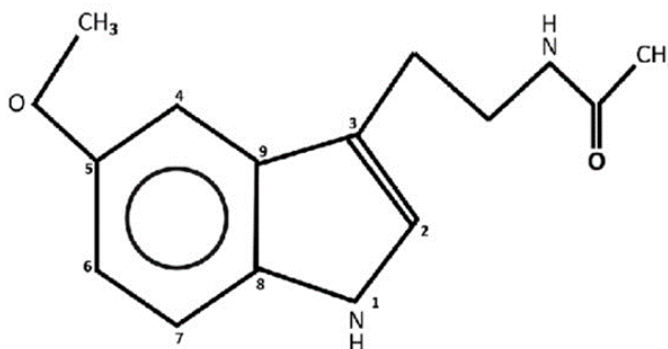
Upravo zbog specifičnih psihičkih obilježja bolesnika s KSU-om i njihovih učestalih psihijatrijskih poremećaja, postoji potreba za interdisciplinarnim liječenjem takvih bolesnika i suradnjom dermatologa, psihijata i kliničkih psihologa. Takav pristup često je ključan u uspješnom liječenju, pri čemu u obzir treba uzeti razne komponente bolesti koje utječu na kvalitetu života tih bolesnika. Među njima se ističu poremećaji spavanja, koji su vrlo česti u kroničnim bolestima kože, naročito onima koje su praćene subjektivnim osjećajem svrbeža ili bolnosti. To su atopijski dermatitis, psorijaza, KSU, prurigo nodularis, hidradenitis suppurativa, akne vulgaris i lihen planus (54). Navedene bolesti remete san i posljedično dovode do narušavanja općeg stanja bolesnika. Proučavanje patofiziološkog mehanizma noćnog svrbeža pokazalo je da je on vrlo složen i još uvijek nije u potpunosti razjašnjen (54). Podležeci mehanizmi noćnog svrbeža mogli bi uključivati: promjenu funkcije epidermalne barijere (noću dolazi do povećanog transepidermalnog gubitka vode), usklađivanje termoregulacije (temperatura organizma najviša je u ranim večernjim satima, a najniža u ranim jutarnjim satima), cirkadijalni ritam (os hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda regulira razine kortikosteroida u organizmu; razina kortikosteroida je najniža navečer i noću, što se odražava u smanjenoj protuupalnoj reakciji), proizvodnju melatonina (glavnog regulatornog hormona ciklusa spavanja i cirkadijalnog ritma), poremećaj lučenja endogenih molekula uključenih u fiziološki cirkadijalni ritam (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, opiodi i opiodni receptori, čimbenik rasta neuralnog tkiva, interleukini i citokini: IL-2, IL-8, IL-31, IFN-gama) (54).

Nedavno je objavljeno istraživanje u kojem je Ates sa suradnicima u bolesnika s KSU-om istraživao kvalitetu života, poremećaje spavanja i kvalitetu sna (55). Pritom je koristio više metoda: *CU-Q2 oL*, *Epworth Sleepiness Scale* (ESS), *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI) i polisomnografiju (uključen je 21 bolesnik s KSU-om i 19 zdravih ispitanika). Uočeno je da bolesnici s KSU-om imaju viši ESS rezultat (veću prosječnu sklonost spavanju u svakodnevnom

životu ili „dnevnu pospanost“), povišeni indeks apneje-hipopneje (AHI indeks, korišten za označavanje težine apneje u snu) koji je iznosio više od pet, što upućuje da bolesnici s KSU-om imaju blaže poremećaje spavanja (55).

### 1.7. POREMEĆAJI SPAVANJA I ULOGA MELATONINA

Najčešći poremećaji spavanja uključuju poteškoće s usnivanjem, rano buđenje i osjećaj umora koji remeti svakodnevne aktivnosti i posljedično dovodi do poteškoća u poslovnom i društvenom životu pojedinca. U sagledavanju utjecaja KSU-e na spavanje, važno je istaknuti ulogu melatonina, hormona koji ima središnju ulogu u ciklusu spavanja. Melatonin (N-acetil-5-metoksitriptamin) je hormon koji se najvećim dijelom proizvodi u epifizi (pinealnoj žlijezdi) stvaranjem iz aminokiseline triptofana, nakon čega se luči u krv i cerebrospinalnu tekućinu (sl. 6) (56). Značajno je da, osim epifize, i druga tkiva proizvode melatonin: mrežnica, koštana srž, spolne žlijezde, sluznica probavnog sustava i koža, no uloga melatonina u navedenim tkivima još je uvijek nepoznate prirode (56).



Slika 6. Molekula melatonina. Preuzeto iz (55).

Jedna od najvažnijih uloga melatonina u čovjeka je započinjanje i održavanje ciklusa spavanja. Upravo na toj se njegovoj ulozi temelji primjena melatonina kao lijeka kod nekih bolesti. Proces sinteze melatonina je složen. Epifiza je neuroendokrini žlijezda, smještena u mozgu, koja sadrži stanice (pinealocite) koje proizvode melatonin. Sinteza melatonina započinje od

aminokiseline triptofana koja se, uz djelovanje enzima triptofan hidroksilaze, transformira u 5-hidroksitriptofan koji se potom pretvara u serotonin. Zatim dolazi do acetilacije serotonina (pomoću enzima arilalkilamin N-acetiltransferaze) u N-acetilserotonin koji se potom pretvara u melatonin (56). Čitav proces sinteze melatonina u pinealocitima epifize je pod kontrolom suprahijazmatskih paraventricularnih jezgri hipotalamusa. Međutim, kontrolu sinteze melatonina ponajprije vrši cirkadijalni sustav, po kojem se melatonin svakodnevno proizvodi sinkronizirano s ciklusom svjetlo/tama. Gledajući prve spoznaje o tome, 1975. godine je otkriveno da se proizvodnja melatonina u čovjeka odvija u cirkadijalnom ritmu te su noćne koncentracije plazmatskog melatonina deset puta više od dnevnih koncentracija (56). Svjetlo inhibira sintezu melatonina na način da svjetlosni podražaj (najčešće iz plavog spektra) aktivira lom melanopsina (fotopigmenta koji absorbira svjetlo u ganglijskim stanicama retine) i preko retinohipotalamičkog puta inhibira sintezu melatonina (57, 58). Pojavom tame dolazi do aktivacijskog djelovanja postganglionskih simpatičkih neurona, što djeluje na izlučivanje noradrenalina te omogućava daljnju sintezu melatonina. Istovremeno dolazi i do aktivacije enzima koji sudjeluje u sintezi melatonina, N-acetil-transferaze (56). Stvoreni melatonin ne pohranjuje se unutar pinealocita, već se oslobađa u obliku u kojem je sintetiziran. Melatonin je lipofilna molekula i tijekom noći lako difundira u cerebrospinalnu tekućinu središnjeg živčanog sustava, kao i u krvotok. U krvotoku je melatonin većinom vezan za albumine (otprilike oko 70% ukupnog melatonina), a u manjem dijelu se nalazi u slobodnom obliku (59). U jetri se melatonin metabolizira u 6-hidroksimelatonin pomoću citokroma P450 i konjugira u 6-sulfatoksimelatonin koji se naknadno izlučuje putem mokraće (60). Vrijednosti stvorenog 6-sulfatoksimelatonina u urinu odražavaju razine melatonina u plazmi, što omogućuje mjerenje koncentracije melatonina u urinu manje invazivnom metodom koja je vjerodostojna za procjenu funkcije epifize i proizvodnju melatonina (60). Osim u urinu, melatonin se može izlučivati i u slini, ali samo slobodni oblik melatonina koji nije vezan za albumine (60). Van Faasen je sa svojim suradnicima u istraživanju pokazao da odstupanje između melatonina mjerenog u slini i u plazmi iznosi čak do 36% (61). Koncentracija salivarnoga melatonina također ovisi o dijelu dana u kojem se mjeri pa se njegove vrijednosti u slini kreću od dnevnih vrijednosti između 1-5 pg/mL do noćnih vrijednosti koje iznose 10-50 pg/mL (62). Najveće koncentracije melatonina u krvi postižu se upravo u noćnim satima, između 00:00h-05:00h, nakon čega njegova koncentracija u krvi ponovno počinje padati (62).



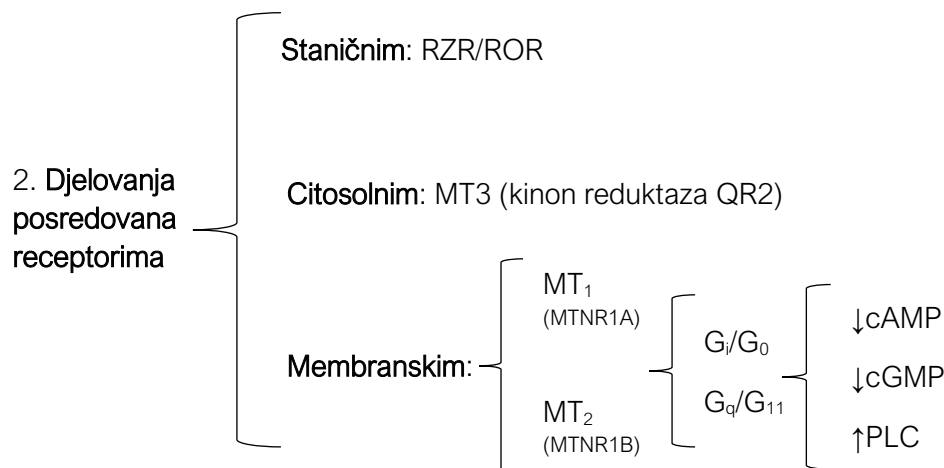
U osvrtu na ukupnu ulogu i značenje melatonina, važno je naglasiti da, osim što je hormon, melatonin je također jedan od najmoćnijih prirodnih antioksidansa, koji uz izravno djelovanje na slobodne radikale, djeluje i na intracelularni antioksidativni enzimski sustav (sl. 7) (56).

Trenutni učinci	Mogući učinci	Kronobiotski učinci	Sezonski učinci	Transgeneracijski učinci
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Direktna i trenutna interakcija melatonina s njegovim efektorima</li> <li>• 1) Antioksidativno djelovanje</li> <li>2) ↓ cAMP-PKA-CREB i cGMP</li> <li>3) ↑ aktivnosti DAG, IP3, PKC</li> <li>4) Regulira kanale kalija i kalcija</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• javljaju se tijekom dana (ranije ili kasnije), a pokreće ih nedostatak melatonina, pod uvjetom da su prisutni tijekom prethodne noći</li> <li>• <b>Proksimalni ili uzastopni</b></li> <li>• 1) preosjetljivost cAMP/PKA/CREB</li> <li>• <b>Distalni ili produženi</b></li> <li>• 1) kontrola transkripcije i translacije gena</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• svakodnevno ponavljanje melatoninskog signala tijekom noći</li> <li>• 1) Regulacija suprahijazmatske jezgre i perifernih tkiva</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dnevno lučenje melatonina i njegova promjene</li> <li>• 1) Djelovanje na <i>pars tuberalis</i> i stanice</li> <li>2) Vremensko podešavanje sezonalnih događaja poput: reprodukcije, metabolizma, imunskog odgovora, kontrole tjelesne mase itd.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prijelaz majčinog melatonina preko posteljice</li> <li>• 1) priprema organizma na vanjski okoliš</li> </ul>

Slika 7. Učinci melatonina. Preuzeto iz (56).

S obzirom da je hormon, melatonin djeluje putem specifičnih staničnih membranskih receptora (MTR1, MTR2) koji se nalaze prvenstveno u središnjem živčanom sustavu, ali i na stanicama brojnih drugih perifernih tkiva te je većina učinaka melatonina ostvarena upravo vezanjem na receptore (Sl. 8) (56). Tako MTR1 receptori u suprahijazmatskoj jezgri hipotalamusa omogućuju melatoninu da inhibira aktivaciju neurona tijekom noći, što najvjerojatnije potiče utonuće u san. S druge strane, značajno je da postoje pretpostavke da MTR2 receptori mijenjaju učinke melatonina na vlastiti cirkadijalni ritam (56). Također je zapaženo da su MTR1 i MTR2 receptori visoko skloni „desenzibilizaciji“ i njihova se aktivnost, nakon izlaganja visokim koncentracijama hormona, značajno smanjuje (56).

## 1. Djelovanja neposredovana staničnim receptorima



Slika 8. Djelovanje melatonina preko receptora. Preuzeto iz (56).

Ciklus spavanje-budnost najpoznatija je aktivnost ljudskog organizma koja prati cirkadijalni ritam (64). Ostale aktivnosti u organizmu koje također prate cirkadijalni ritam su promjene tjelesne temperature, promjene krvnog tlaka, promjene imunskog odgovora i promjene razine određenih hormona u organizmu (64). Spavanje je neurokemijski proces značajan za obnavljanje moždane energije, isključivanje dotoka vanjskih informacija i obradu prethodno stečenih informacija tijekom budnog stanja (64). Spavanje omogućuje cerebralne promjene koje su temelj učenja, konsolidacije i pamćenja te aktivaciju glimfatičkog sustava, odgovornog za čišćenje metabolita u mozgu (64). Te su funkcije bitne za razvoj mozga, fizičko i mentalno zdravlje osobe i održavanje kognitivnih funkcija koje rezultiraju osjećajem dobrobiti (64). Dugotrajni problemi sa spavanjem mogu imati negativan učinak na cjelokupno zdravlje smanjenjem imunskog sustava, povećanjem rizika od pojave hipertenzije, kardiovaskularnih bolesti ili inzulinske rezistencije (65).

Melatonin je važan fiziološki regulator sna pa je njegova odgovarajuća proizvodnja jako bitna. Poznato je da postoje čimbenici koji negativno djeluju na proizvodnju melatonina: starenje, prisutnost određenih bolesti (npr. maligne bolesti, dijabetička neuropatija, Alzheimerova bolest) i primjena određenih lijekova (npr.  $\beta$ -blokatora, klonidina, naloksona i protuupalnih lijekova). Tako

je navedenim stanjima smanjena proizvodnja melatonina i ti bolesnici često imaju prateći poremećaj spavanja (64).

Pozitivno djelovanje melatonina na san otvorilo je mogućnost njegove primjene kod brojnih bolesti i poremećaja. Melatonin prigušuje cirkadijalni ritam koji potiče buđenje i time potiče san (66). Nakon brojnih istraživanja koja su pokazala da egzogeni unos melatonina povećava koncentraciju melatonina u organizmu i povoljno utječe na kvalitetu spavanja, opće je prihvaćena mogućnost sistemske primjene melatonina u poremećajima spavanja (67, 68).

### **1.8. FARMAKOLOŠKI ZNAČAJ MELATONINA**

Najčešća indikacija za sistemsku primjenu egzogenog melatonina su poremećaji spavanja (insomnije) zbog njegove primarne korisne uloge u ciklusu spavanja. Melatonin sinkronizira cirkadijalne ritmove i poboljšava početak sna, njegovo trajanje i kvalitetu (66, 67). Suplementi melatonina se dobro podnose i nemaju poznatih kratkoročnih niti dugoročnih štetnih učinaka (68). Pritom je uočeno da su proizvodi s melatoninom drugačije registrirani u SAD-u i u Europskoj uniji. Tako se melatonin u SAD-u, prema FDA (*“Food and Drug Administration”*), ubraja u dodatke prehrani i može se kupiti u bilo kojoj dozi bez recepta liječnika. U Europskoj uniji je, prema EFSA-i (*“European Food Safety Authority”*), melatonin registriran također kao dodatak prehrani, ali je indiciran za liječenje primarne nesanice u odraslih osoba starijih od 55 godina (68). Istraživanja su pokazala da primjena sistemskog melatonina i njegovih agonista (koji se neselektivno vežu za membranske MT1 i MT2 receptore) dovodi do njihove aktivacije, što u bolesnika s insomnijom produljuje vrijeme spavanja, poboljšava kvalitetu sna i smanjuje latenciju sna (68).

Postoji više načina i oblika primjene melatonina, u obliku tableta, otopine za oralnu primjenu, spreja za nos ili sluznice usne šupljine, u obliku kožnih flastera ili lokalno u obliku kreme (68). Primijenjeni melatonin također se metabolizira u jetri pomoću citokroma p450, a brzina apsorpcije i metabolizam može varirati ovisno o dobi i spolu (68). Istraživanja su pokazala da u mlađih odraslih bolesnika s nesanicom, nakon oralne primjene melatonina, serumske koncentracije melatonina dosežu svoj maksimum otprilike nakon 45 minuta nakon unosa. Također, preporučuje se primjena melatonina u večernjim satima, radi oponašanja fiziološke proizvodnje melatonina, što je temeljeno na praćenju cirkadijalnog ritma (68).

Najčešće nuspojave koje se javljaju kod sistemske primjene melatonina su blažeg oblika i to su: glavobolja, mučnina, vrtoglavica i pospanost (68). Oprez je ipak potreban kod polipragmazije (istodobne primjene većeg broja lijekova), budući da se melatonin metabolizira preko citokroma p450 u jetri i može utjecati na metabolizam lijekova čija se razgradnja odvija preko istog citokroma (poput antikoagulansa i antitrombotičkih lijekova, antikonvulziva, oralnih kontraceptiva, oralnih hipoglikemika i imunosupresiva) (68).

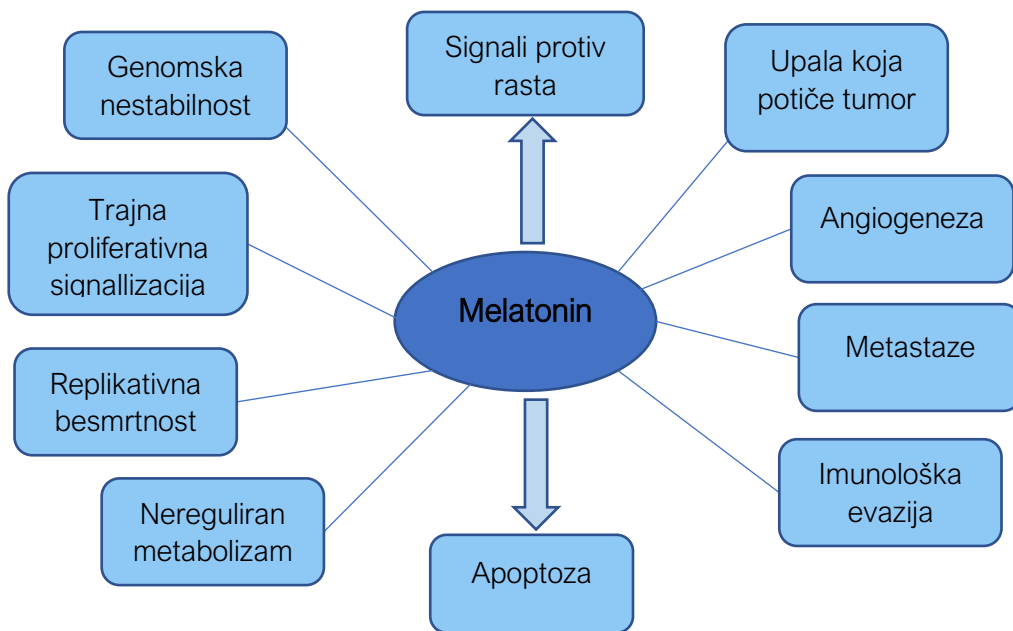
Prema nedavnom članku (objavljenom 2021.g. u *Frontiers Psychiatry*) u kojem su navedene preporuke ekspertne skupine (*International Expert Opinions and Recommendations*) o primjeni melatonina u liječenju nesаницe, smjernice preporučuju primjenu 2-10 mg melatonina (koji se sporo oslobađa), jedan do dva sata prije spavanja) (69).

Ranije objavljena preporuka za primjenu melatonina kod jet-laga preporučuje dozu od 0.5-1.0 mg sistemskog melatonina (70). Zbog antioksidativnog i protupalnog učinka, melatonin se također koristi kao prirodni dodatak prehrani među sportašima za regulaciju ciklusa spavanja i zaštitu mišića od oksidativnog stresa (71). Prema nedavnim istraživanjima, intenzivne vježbe remete antioksidativni status sportaša, a suplementacija melatoninom jača njihov antioksidativni status (71). Njegova učinkovitost je također dokazana (prema kliničkim kohortnim istraživanjima) u djece s autističnim poremećajima, u adolescenata oboljelih od depresije, u žena s predmenstrualnim disforičnim poremećajem, u bolesnika s hipertenzijom koji uzimaju beta-blokatore, kao i u djece s hiperreaktivnim poremećajima pažnje (72-77). Melatonin se također primijenjivao u bolesnika s atopijskim dermatitisom, čestom alergijskom bolesti kože, obilježenom intenzivnim osjećajem svrbeža i posljedičnim poremećajem kvalitete sna tih bolesnika (78).

Osim sistemske primjene melatonina u bolesnika s poremećajima spavanja, moguća je i lokalna terapijska primjena melatonina u određenim dermatološkim bolestima i bolestima usne šupljine (78, 79, 80, 81). Tako je kod dermatoloških bolesti, moguća lokalna primjena melatonina u poremećajima pigmentacije (poput melazme) i u bolestima vlasišta (poput androgene alopecije i telogenog efluvija) (79, 80). Kod bolesti usne šupljine, prema istraživanjima, primjena melatonina (lokalna i sistemska) moguća je u bolesnika s parodontitisom, nakon čega dolazi do poboljšanja ključnih parodontalnih parametara (poput smanjenja dubine džepova) (81).

Zbog relativne sigurnosti primjene melatonina, njegovog povoljnog djelovanja u ciklusu spavanja te brojnih antioksidativnih, protupalnih i antitumorskih učinaka, melatonin se nastavlja proučavati

u bolesnika s kroničnim i malignim bolestima. Postoje brojna klinička i eksperimentalna istraživanja koja su uočila antikancerogeni učinak melatonina (sl. 8) (78). U liječenju bolesnika s malignim bolestima, inhibitorno djelovanje ovog hormona može se postići samostalnom primjenom melatonina, ali ponajprije kombinacijom s drugim terapijama u liječenju malignih bolesti.

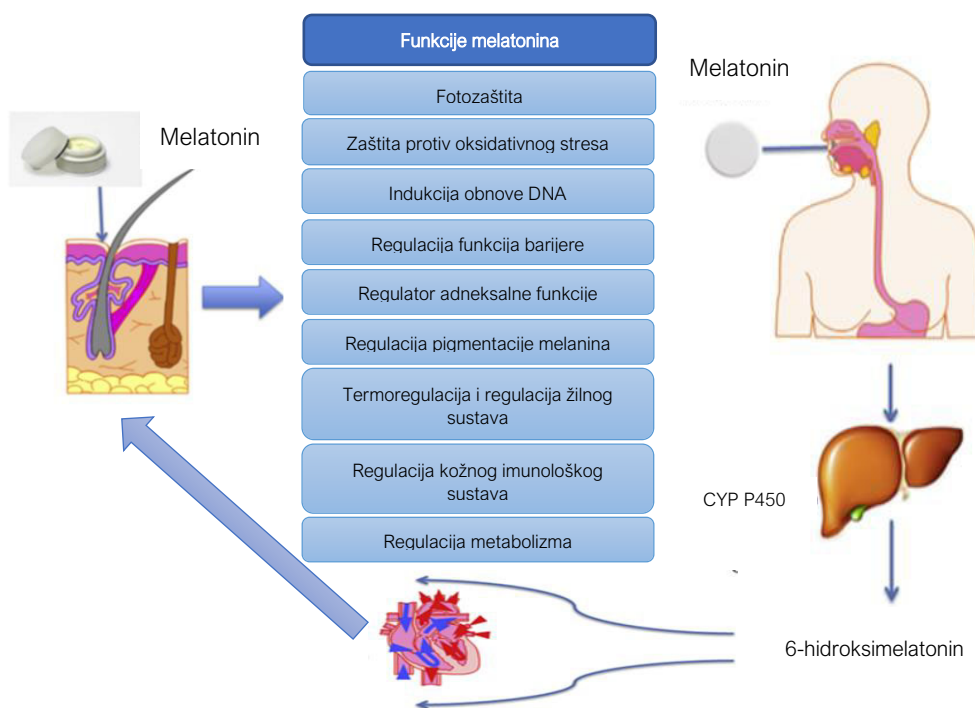


Slika 8. Učinci melatonina kod malignih bolesti. Preuzeto iz (78).

### 1.9. ZNAČAJ MELATONINA S DERMATOLOŠKOG ASPEKTA

Gledajući različite i široke mogućnosti primjene melatonina, uočeno je da je dermatologija struka u kojoj melatonin još uvijek nije u potpunosti dobio svoje mjesto. No, u posljednje vrijeme, melatonin ipak pomalo dobiva na značaju, čemu pridonose brojna istraživanja s pozitivnim rezultatima njegove kliničke primjene u bolestima poput atopijskog dermatitisa, hiperpigmentacijskih poremećaja i poremećaja vlasišta (82). Osim navedene terapijske primjene, najnovija istraživanja istražuju primjenu melatonina i u prevenciji tumora kože, fotoprotekciji i u poticanju regeneracije kože nakon njenog oštećenja, što je osobito važno u prevenciji starenja (82). Slominski je sa suradnicima u svojim člancima prikazao brojne uloge melatonina dokazane u koži,

a od kojih ističu one u: fotoprotekciji (zbog antioksidativnih učinaka i uloge u sprječavanju oštećenja i u mehanizmima popravka DNA), antitumorskoj aktivnosti, procesima hipopigmentacije, održavanju cjelovitosti epidermalne barijere i u cijeljenju kože, protuupalnoj i imunomodulirajućoj aktivnosti melatonina, u upalnim dermatozama i u termoregulaciji organizma (sl. 9) (82).



Slika 9. Učinci melatonina u koži. Preuzeto iz (82).

Osobito je važno spomenuti da koža i folikuli dlake također posjeduju receptore za melatonin, ali i sami proizvode lokalni melatonin i značajno sudjeluju u ekstrapinealnoj sintezi melatonina, pa je razina melatonina u koži puno viša od njegove serumske razine (82).

Osim navedenog, melatonin u koži sudjeluje i u proizvodnji značajnog multifunkcionalnog metoksiindola, važnog metabolita i značajnog faktora u održavanju funkcija kože, protuupalnim i antioksidativnim reakcijama, koji sudjeluje u sprječavanju patoloških promjena kože tako da

modulira odgovor kože na egzogene nokse iz okoliša (83). Zbog svih navedenih učinaka, melatonin je molekula koja ima izraziti potencijal u dermatološkoj struci te su neophodna nova istraživanja koja bi uputila na širu kliničku primjenu melatonina (kako u lokalnom, tako i u sistemskom obliku) u dermatologiji.

#### **1.10. MELATONIN KAO DODATNA TERAPIJSKA OPCIJA U DERMATOLOŠKIH BOLESNIKA**

Proučavanje aktualne primjene melatonina u dermatologiji ukazuje da on još uvijek nije zauzeo svoje mjesto u dermatološkoj terapiji, unatoč svom potencijalu. Pretraživanjem literature uočava se da se sistemska primjena melatonina najčešće primjenjuje u liječenju atopijskog dermatitisa i melazme (78, 79, 84). Primjena sistemskog melatonina u bolesnika s atopijskim dermatitisom prvenstveno se temelji na djelovanju melatonina na poboljšanje kvalitete njihovog sna, budući da je ta bolest karakterizirana intenzivnim subjektivnim osjećajem svrbeža koji remeti kvalitetu sna djece i odraslih (78). Rezultati istraživanja utjecaja primjene melatonina u bolesnika s atopijskim dermatitisom pokazala su se izrazito korisnima. Prema istraživanju, koje je uključivalo 48 djece s atopijskim dermatitisom, nakon primjene peroralnog melatonina, uočeno je skraćivanje latencije spavanja za 21.4 minute (u odnosu na placebo), kao i smanjenje SCORAD-a, pokazatelja težine kliničke slike (78). Također, u istraživanju nije zabilježena nijedna nuspojava primjene sistemskog melatonina kao niti jedan štetni događaj, što je osobito važno kada se radi o dječjoj populaciji (78). Od ostalih bolesti kože u kojih se ispitala sustavna primjena melatonina navodi se i melazma, poremećaj pigmentacije koji se najčešće javlja u tamnopusih žena i vrlo često je povezan s hormonskim disbalansom i drugim poremećajima (79, 84, 85, 86). Bolest je vrlo često rezistentna na terapiju i sklona recidivima. Tako je 2010. g. provedeno istraživanje na 36 bolesnica s melazmom koje su primale 3 mg melatonina peroralno uz lokalnu aplikaciju melatonina na hiperpigmentirana područja tijekom tri mjeseca, kao i deset bolesnika koji su uzimali i aplicirali placebo pripravak (84). Rezultati su, nakon kombinirane primjene melatonina, ukazali na značajno poboljšanje melazme (84), što upućuje na antioksidativne učinke i hipopigmentacijsko djelovanje melatonina u hiperpigmentacijskim poremećajima (85, 86). Melatonin se u obliku lokalnih pripravaka, a također i sustavno, primjenjuje i kod androgenetske alopecije (87) zbog izravnih učinaka melatonina u folikulu dlake i neizravnih učinaka (putem regulacije djelovanja drugih

hormona koji poboljšavaju rast kose) (82). Tijekom 2021.g. objavljeno je istraživanje koje je povezalo rozaceju i Alzheimerovu bolest (88). U utvrđivanju zajedničke molekularne regulatorne mreže i identifikaciji potencijalnih terapijskih lijekova za rozaceju i Alzheimerovu bolest, među 113 predviđenih lijekova za navedene bolesti, bio je i melatonin (88). Primjena melatonina je značajno ublažila ranoaceiformne promjene na koži, najvjerojatnije svojim protuupalnim učincima i učincima na angiogenezu (88).

Također, 2022. g. objavljen je jedan "case-report" u kojem je preporučena lokalna primjena melatonina u kremi za liječenje akutnog radiodermatitisa, nastalog tijekom provođenja radioterapije zbog adenokarcinoma dojke (89). U radu se opisuje regresija radiodermatitisa nakon aplikacije kreme s melatoninom tijekom tri tjedna, što upućuje na još jednu potencijalnu mogućnost primjene lokalnog melatonina kao terapijske opcije u liječenju akutnog radiodermatitisa, uz lokalne kortikosteroidne pripravke i emolijentne kreme (89). Ono što je posebno zanimljivo jest primjena melatonina u liječenju melanoma, najzloćudnijeg tumora kože, čija je incidencija u porastu. Naime, zbog svog onkostatškog potencijala i antitumorskih svojstava te spomenutih antioksidativnih, protuupalnih i učinaka na indukciju apoptoze, postoje istraživanja koja su uključila melatonin u adjuvantnu terapiju melanoma, zajedno s kemoterapijom (90). Pokazalo se da melatonin, kao sinergistička molekula, može poboljšati ishod u tih bolesnika (90). Osim terapijskih učinaka, melatonin ima ulogu u prevenciji pojave patoloških promjena na koži koje su rezultat starenja kože i fotoprotekciji. Gledajući učinke melatonina na kožu, temeljno djelovanje melatonina je i smanjenje apoptoze stanica, moduliranje ekspresije melatoninskih (MT2) receptora, kao i smanjenje ekspresije alfa-estrogenskog receptora, uz dodatni antioksidativni učinak, što pridonosi djelovanju melatonina u borbi protiv slobodnih radikala i poticanju popravka oštećene stanične DNA (91). U etiologiji starenja kože najznačajnija je izloženost UV zračenju što je ujedno i najvažniji okolišni čimbenik za nastanak tumora kože (91). Pokazalo se da lokalna primjena melatonina smanjuje stvaranje slobodnih radikala i pomaže djelovanju mjera fotoprotekcije (korištenju kreme s visokim zaštitnim faktorom, nošenju zaštitne odjeće i naočala). Budući da se melatonin pokazao sigurnim i učinkovitim, postoji opcija i lokalne primjene melatonina kao mjere fotoprotekcije (92).

Zbog svega ovog navedenog, kao i potencijalnih nepoznatih mehanizama djelovanja melatonina, nova istraživanja o melatoninu su neophodna s ciljem šire kliničke primjene melatonina u



dermatologiji (u lokalnom i u sistemskom obliku) kako bi se iskoristio puni potencijal ove molekule.

### **1.11. MJERENJE MELATONINA U DERMATOLOŠKIM BOLESTIMA**

Pretraživanjem literature uočava se da je najčešća istraživana dermatološka bolest u kojoj su određivane vrijednosti koncentracije melatonina atopijski dermatitis (78, 93, 94, 95, 96, 97). Tako je najstariji rad o ovoj temi objavljen davne 1988. g., u kojem su prikazane vrijednosti serumskoga melatonina (koje su bile mjerene svakih dva sata) u 18 bolesnika s teškim atopijskim dermatitisom, od kojih su samo četiri bolesnika imala normalne vrijednosti melatonina u serumu (93). Značajan je i najnoviji rad, objavljen 2021.g. koji je istraživao vrijednosti serumskoga melatonina u bolesnika s teškim i vrlo teškim oblikom atopijskog dermatitisa u 36 bolesnika (97). Koncentracija melatonina u serumu bolesnika s vrlo teškim atopijskim dermatitisom bila je značajno niža u odnosu na bolesnike s teškom kliničkom slikom, ali se koncentracija melatonina u skupini bolesnika s atopijskim dermatitisom nije značajno razlikovala od one u kontrolnoj skupini (97). Od ostalih dermatoloških bolesti, serumski melatonin je određivan i kod rozaceje u žena koje su u razdoblju perimenopauze (studija je uključivala 15 žena s rozacejom i 15 zdravih žena slične dobi) (98). U bolesnica s rozacejom uočene su snižene serumske vrijednosti melatonina, a pad koncentracije melatonina bio je u korelaciji s težinom sindroma menopauze (98). Serumski melatonin je također istraživan i kod psorijaze i vitiliga (99, 100). U studiji provedenoj davne 1988. g., analizirane su vrijednosti serumskoga melatonina u 13 bolesnika sa psorijazom u odnosu na 13 zdravih ispitanika. Uočene su značajno niže vrijednosti melatonina u serumu bolesnika sa psorijazom (99). Rezultati su pokazali da su bolesnici sa psorijazom izgubili noćni porast vrijednosti koncentracije melatonina i uobičajeni cirkadijalni ritam lučenja melatonina (99). Serumski melatonin istraživan je i u bolesnika s vitiligom koji su bili izloženi stresu (100). Studija je uključila 41 bolesnika s vitiligom (njih 16 bolovalo je od segmentalnog, a 25 od nesegmentalnog oblika) s proživljenim stresom u anamnezi i različitim trajanjem bolesti (od nekoliko mjeseci do maksimalno 20 godina) (100). Rezultati su pokazali da je 8 od 16 bolesnika sa segmentalnim

vitiligom imalo sniženu koncentraciju melatonina, dok je u svih 25 bolesnika sa nesegmentalnim vitiligom uočena snižena koncentracija melatonina (100).

Aktualnim pretraživanjem literature zamjećuje se porast istraživanja melatonina, ne samo u dermatologiji, već i u drugim područjima medicine, poput psihijatrije, onkologije, neurologije, pedijatrije, endokrinologije i ginekologije.

### **1.12. SLINA, SALIVARNA DIJAGNOSTIKA I MJERENJE SALIVARNOG MELATONINA**

Posljednjih dvadesetak godina došlo je do razvoja salivarne dijagnostike u svrhu ranog otkrivanja određenih bolesti, mjerenja koncentracije određenih lijekova, detekcije opojnih droga i alkohola u organizmu, ali i koncentracije hormona u slini (101). Razlog tome je što je uzorkovanje sline neinvazivan, lakši i jednostavniji postupak u odnosu na uzimanje krvnih uzoraka za analizu. Slina (lat. saliva) je tjelesna tekućina koju proizvode žlijezde slinovnice koja se izlučuje u područje usne šupljine. Žlijezde slinovnice u normalnim uvjetima luče do 1000 ml sline dnevno i u dijagnostičke svrhe se najčešće koristi nestimulirana miješana slina, koja se sastoji od serozne i mukozne sline, tekućine iz gingivnog sulkusa i transudata seruma (101, 102). Pritom 95% ukupnog volumena sline izlučuju velike žlijezde slinovnice, dok ostalih 5% volumena izlučuju male žlijezde slinovnice. Ona ima važnu ulogu u omogućavanju procesa probave, u vidu omekšavanja zalogaja, gutanja hrane, a sudjeluje i u funkciji govora. Amilaza je enzim koji se nalazi u slini i pomoću kojeg se razgrađuje škrob, a također ima i zaštitnu ulogu time što mehanički odstranjuje ostatke hrane u usnoj šupljini i ispire bakterije. Što se tiče sastava sline, više od 99 % sline čini voda, dok ostalih 1% otpada na anorganske ione i organske tvari, poput ugljikohidrata, proteina, lipida, enzima i hormona (103). Slina nije idealni biološki materijal, jer na sam individualni sastav sline mogu utjecati brojni čimbenici, poput dobi, spola, pušenja, prehrane, lijekova ili patofiziološkog stanja usne šupljine (66). Zbog neinvazivnosti i jednostavnosti postupka, slina se može prikupiti u kući bolesnika i izravno transportirati u laboratorij bez uključivanja medicinskog osoblja, što pridonosi razvoju i značajnosti salivarne dijagnostike. Također, u slini se može odrediti i izmjeriti niz biomarkera. Salivarni biomarkeri su biološke molekule koje nalazimo u slini i koje nam omogućuju uvid u etiologiju, patogenezu, prognozu i razvoj neke bolesti (npr. nakon primjene

određene terapije) (101, 103). Najčešće primijenjivani salivarni biomarkeri su određeni tumorski markeri (Ca125, Cyfra 21-1, tkivni polipeptidni antigen, Ca15-3, onkogen erb), određivanje protutijela na određene infekcije u organizmu (HIV, hepatitis A, B, C, COVID-19, itd.), određivanje koncentracije lijekova (barbiturati, benzodiazepini, metadon, itd.), kao i određivanje koncentracije hormona (kortizol, testosteron, estradiol, estriol, progesteron, melatonin, itd.) (102). Salivarni biomarkeri su tvari koje su liposolubilne i lako prolaze kroz staničnu membranu stanica (101). Kod analize hormona u slini važno je da hormoni putuju krvotokom u dva oblika (vezani za proteinski nosač i u slobodnom obliku), a jedino slobodni oblik hormona može prijeći u slinu (104). Pretraživanjem literature o određivanju koncentracije salivarnog melatonina u posljednjih pet godina, najčešće je određivan u bolestima usne šupljine, malignim i psihijatrijskim bolestima (105, 106, 107, 108, 109, 110, 111). Tako su njegove vrijednosti istraživane u bolestima parodonta, karijesa, karcinoma usne šupljine, karcinoma prostate, anksioznog poremećaja, depresije, bipolarnog poremećaja i posttraumatskog stresnog poremećaja (tbl. 5) (105, 106, 107, 108, 109, 110, 111). Čimbenici koji mogu utjecati na rezultate mjerenja salivarnog melatonina mogu se podijeliti na nepromjenjive i promjenjive čimbenike (112). U nepromjenjive čimbenike se ubrajaju genetički čimbenici (volumen aktivnog tkiva epifize određuje količinu sekrecije melatonina), dob (s porastom dobi, smanjuje se lučenje melatonina), spol (spolni hormoni, kao i primjena oralne hormonske kontracepcije utječu na lučenje melatonina), dok se u promjenjive čimbenike ubrajaju svjetlo (najznačajniji čimbenik koji inhibira lučenje melatonina), godišnja doba, položaj u kojem se uzorkuje slina ili serum te fizička aktivnost (112). Uzimajući u obzir proces sinteze melatonina, određene bolesti organa koje sudjeluju u njegovoj sintezi i metabolizmu mogu utjecati na aktivnost lučenja melatonina (npr. bolesti oka, ozljede kralježnice, bolesti jetre i bubrega, kronični periodontitis) kao i primjena određenih lijekova (beta blokatori, benzodiazepini, MAO-inhibitori, antidepresivi, oralni kontraceptivi...) (112). Zbog jednostavnosti i prihvatljive cijene, najčešće metode određivanja salivarnog melatonina su radioimuni test i ELISA test (engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*) (113). Osim navedenih metoda, u određivanju vrijednosti melatonina koristi se tekuća kromatografija i masena spektrometrija (114). Na određivanje razine salivarnog melatonina može utjecati cirkadijalni ritam, brzina protoka sline i metoda mjerenja (114).

Tablica 5. Pregled objavljenih istraživanja u posljednje 3 godine u kojima je mjereno salivarni melatonin

AUTOR I GODINA ISTRAŽIVANJA	DIJAGNOZA	BROJ ISPITANIKA	REZULTATI ISTRAŽIVANJA
Lozano-Lorca et al. CAPLIFE Study.; 2022	Karcinom prostate	40 bolesnika s karcinomom prostate, 41 ispitanik kontrolne skupine bez karcinoma prostate	U bolesnika s karcinomom prostate, vrijednosti melatonina uvijek su bile niže u bolesnika, nego u kontrolama. U prosjeku, razine melatonina u bolesnika bile su 64,0% niže (95% CI -73,4, -51,4) nego u kontrolnoj skupini.
Saeralaathan S et al.; 2021	Dentalni karijes	16 bolesnika s aktivnim dentalnim karijesom, 16 ispitanika kontrolne skupine bez dentalnog karijesa	U bolesnika s aktivnim karijesom razine melatonina u slini bile su značajno niže ( $p < 0,01$ ), nego u bolesnika bez zubnog karijesa.
Fang, L et al. 2021	Bipolarni poremećaj	11 bolesnika s bipolarnim poremećajem u depresivnoj fazi i 15 ispitanika kontrolne skupine	U bolesnika s depresivnom epizodom uočene su povišene razine salivarnog melatonina u vremenu njegova maksimalnog izlučivanja.
Kudo N et al. 2021	Depresivno raspoloženje u postpartalnom periodu majki mjesec dana nakon poroda.	98 zdravih majki, u vremenskom razdoblju mjesec dana nakon poroda. Svaka ispitanica je ispunila Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS).	6 majki s EPDS ocjenom $\geq 9$ (granična vrijednost za žene s visokim rizikom od postnatalne depresije) imalo je prosječnu razinu melatonina $< 4$ pg/ml ili $> 16$ pg/ml tijekom 3 dana. Majke s razinom melatonina $< 4$ pg/ml ili $> 16$ pg/ml obično su imale povišene EPDS rezultate u usporedbi s majkama s razinom melatonina između 4 i 16 pg/ml ( $3. \pm 2,12, p = 0,053$ ).

Balaji TM et Rao SR. 2020	Parodontitis	4 skupine bolesnika: 30 ispitanika nepušača bez parodontitisa, 30 ispitanika pušača s generaliziranim kroničnim parodontitisom	Bolesnici s parodontitisom imaju snižen salivarni melatonin. Snižena razina melatonina je povezana s prijelazom iz parodontnog zdravlja u kronični generalizirani parodontitis kod pušača, ali ne i kod nepušača.
Salarić I, et al. 2021	Planocelularni karcinom usne šupljine	34 ispitanika s karcinomom usne šupljine i 33 ispitanika kontrolne skupine	Koncentracija salivarnog melatonina je bila viša u bolesnika s karcinomom usne šupljine, u odnosu na zdrave ispitanike kontrolne skupine, mjeren u stimuliranoj i nestimuliranoj slini
Paul MA, et al. 2019	Posttraumatski stresni poremećaj	7 ispitanika s PTSP-om, 14 ispitanika kontrolne skupine koji su podijeljeni u 2 grupe po 7 ispitanika, s obzirom na okolnosti ciklusa spavanja (normalan/idealno)	Bolesnici s PTSP-om pokazali su snižen salivarni melatonin, u odnosu na dvije kontrolne skupine. Kontrolna skupina s idealnim okolnostima ciklusa spavanja imala je više vrijednosti salivarnoga melatonina, u odnosu na skupinu s normalnim okolnostima ciklusa spavanja.

Pretraživanjem literature, u bolestima kože, salivarni melatonin je jedino određivan u bolesnika s atopijskim dermatitisom (95). Što se tiče KSU-e, ne postoji podatak o određivanju koncentracija salivarnoga melatonina u bolesnika s KSU-om. Od ostalih mogućih salivarnih biomarkera, 2019.g. objavljeno je korejsko istraživanje u kojem je određivana koncentracija salivarnoga kortizona u bolesnika s KSU-om (116).

## **2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Hipoteza istraživanja: bolesnici s KSU-om imaju niže vrijednosti salivarnoga melatonina, lošiju kvalitetu sna i lošiju kvalitetu života, u odnosu na zdrave ispitanike.

Ciljevi istraživanja su:

- 1) odrediti vrijednosti melatonina u slini bolesnika s KSU-om i usporediti ih s vrijednostima zdravih ispitanika (kontrolna skupina)
- 2) istražiti povezanost težine bolesti i aktivnosti KSU-e s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika
- 3) istražiti povezanost koncentracije melatonina u slini s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika s KSU-om

## **3. ISPITANICI I METODE**

Istraživanje je provedeno tijekom 2020., 2021. i 2022. g. u Klinici za dermatologiju i venerologiju i u Kliničkom zavodu za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice i na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu. Istraživanje je opazajno, presječno istraživanje s uključenom kontrolnom skupinom. Odobreno je od strane Etičkog povjerenstva KBC-a Sestre milosrdnice (003-06/21-03/030) i od strane Etičkog povjerenstva Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (na XIX. sjednici održanoj 10. rujna 2020. g.).

### **3.1. ISPITANICI**

Ovo istraživanje uključilo je dvije skupine ispitanika: ispitivanu i kontrolnu skupinu. Ispitivana skupina obuhvaćala je 38 bolesnika s KSU-om (glavni uključujući kriterij bila je dijagnoza KSU-e, kronične urtikarije nepoznate etiologije koja traje duže od šest tjedana) koji su bili trijažirani u Klinici za dermatologiju i venerologiju KBC-a Sestre milosrdnice.

Kriteriji uključivanja u ispitivanu skupinu su bili: dijagnoza KSU-e (bolest traje duže od šest tjedana bez identificiranog uzroka) i dob bolesnika od 18 do 65 godina. Kod uključenih bolesnika provedena je šira dijagnostička obrada radi isključenja kronične inducirane urtikarije i potencijalnih uzroka/provocirajućih čimbenika koji bi mogli izazivati pojavu urtika i/ili angioedema.

Isključili smo bolesnike s urtikarijom ili angioedemom uzrokovanom lijekovima, akutnom spontanom urtikarijom, KU-om poznatog uzroka, nasljednim angioedemom, urtikarijskim vaskulitisom; pregledom oralnog patologa bolesnike s parodontalnom bolešću, oralnim infekcijama ili drugim upalnim procesima, oralnim ulkusima i karcinomom, kserostomijom; kao i bolesnike s malignom bolešću, mentalnim poremećajima, trudnice i dojilje, bolesnike koji rade u smjenama te bolesnike na terapiji sustavnim kortikosteroidima ili omalizumabom.

U ispitivanu skupinu je uključeno 38 bolesnika/bolesnica koji su zadovoljili navedene kriterije. U kontrolnu skupinu je uključeno 38 zdravih ispitanika, koji nisu bolovali od kožnih, malignih ili psihijatrijskih bolesti, a koji su po dobi i spolu odgovarali ispitivanoj skupini.

Svaki sudionik istraživanja potpisao je informirani pristanak (Prilog 1.) prije kojeg mu se detaljno pojasnila svrha i plan istraživanja te je u svakom trenutku mogao odustati od istraživanja. Također, svaki sudionik dobio je upute o pravilnom sakupljanju sline (Prilog 2.).

Uzimanje anamnestičkih podataka i klinički pregled ispitanika provedeni su na Klinici za dermatologiju i venerologiju KBC-a Sestre milosrdnice. Uzorkovanje sline i ispunjavanje upitnika provodilo se tijekom hospitalizacije na Odjelu navedene Klinike i kod kuće. Pregled oralnog patologa učinjen je na Zavodu za oralnu patologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Veličina uzorka ispitanika određena je pomoću statističkog on-line kalkulatora Statulator (<http://statulator.com/SampleSize/ss2M.html>). Kod određivanja veličine uzorka za određivanje koncentracije salivarnoga melatonina sa statističkog aspekta (ukoliko se očekuje razlika između zdravih i bolesnih ispitanika od dva i standardna devijacija od dva), u svakoj skupini bilo je potrebno uključiti minimalno 16 ispitanika.

Zbog cirkadijalnog ritma lučenja melatonina, koncentracija melatonina u slini ovisi o dijelu dana kada se uzima uzorak sline i kreće se od vrijednosti između 1-5 pg/mL tijekom dana do vrijednosti 10-50 pg/mL tijekom noći (62). Najviše koncentracije melatonina u organizmu postižu se u

noćnim satima. U bolesnika s KSU-om očekivali smo koncentracije salivarnoga melatonina niže u odnosu na zdrave ispitanike, tj. da su promijenjene zbog izraženog subjektivnog osjećaja noćnog svrbeža koji remeti san bolesnika.

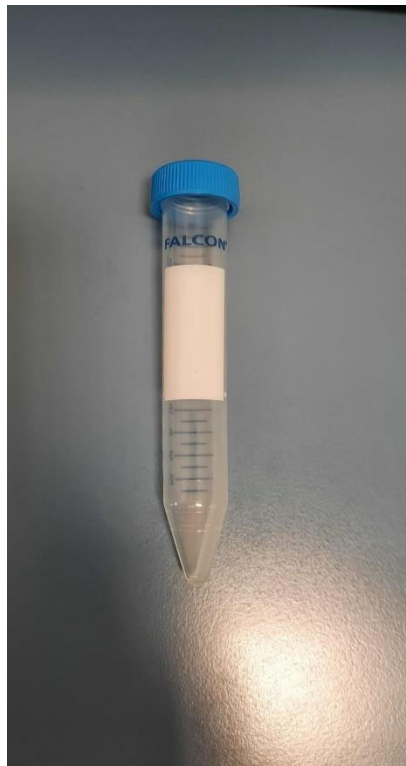
### **3.2. MATERIJALI I METODE**

Bolesnici s aktivnom KSU-om koji su zadovoljili uključujuće kriterije i koji su bili voljni sudjelovati u istraživanju (uz njihov pisani pristanak) bili su uključeni u istraživanje. Svakog bolesnika pregledao je dermatolog-alergolog, a potom i oralni patolog, radi isključenja patoloških stanja u usnoj šupljini koja su bila isključujući kriterij (karcinom usne šupljine, parodontitis i srodna upalna stanja).

#### **3.2.1. Uzorkovanje sline**

Kao materijal, u istraživanju se koristila slina, koja je bila pohranjena prvo (do tri dana) u hladnjaku na temperaturi od 4 do 8 °C, a potom u zamrzivaču na – 80 °C do ELISA analize. Svaki ispitanik je dobio navedene upute o pravilnom sakupljanju uzorka sline, koje su obuhvaćale pravila o konzumaciji hrane, pića, alkohola, pušenju i pravilnoj higijeni usne šupljine prije uzimanja sline. Uzorkovanje sline obavljeno je u večernjim satima u tamnoj sobi, vodeći računa o preporučenom vremenu za uzimanje uzorka sline za analizu melatonina između 22:00 i 00:00h. Metoda prikupljanja sline provodila se neizravnom metodom pomoću komercijalnih epruveta za prikupljanje sline (116, 117). Uzorak sline za određivanje vrijednosti melatonina pokazao se stabilnim do sedam dana na temperaturama od 2 do 8 °C, a na temperaturama nižim od  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  i do šest mjeseci.





Slika 10. Komercijalna epruveta za prikupljanje sline



Slika 11. Zamrzivač u kojem su pohranjeni uzorci sline do analize (-70 °C)

### 3.2.2. Upitnici za procjenu težine i aktivnosti KSU, kontrole bolesti, dermatološke kvalitete života i kvalitete sna

Ispitanici su također anketirani s četiri standardizirana upitnika, pomoću kojih su dobiveni podaci o aktivnosti i težini KSU-e, kvaliteti života i kvaliteti spavanja. Za procjenu aktivnosti i težine bolesti koristio se test aktivnosti urtikarije (*Urticaria Activity Score- UAS7*), upitnik, vođenje dnevnika koji uzima u obzir broj urtika i intenzitet svrbeža praćenih tijekom sedam dana (Prilog 3) (3, 32, 33, 34). Upitnik izvorno postoji na engleskom jeziku, ali postoji i hrvatska inačica istoimenog upitnika za bolesnike. Tijekom jednog dana se može skupiti raspon bodova od 0 do 6, koji su rezultat broja urtika (0 = bez urtika; 1 = 1-6 urtika; 2 = 7-12 urtika; 3 = više od 12 urtika) i intenziteta svrbeža (0 = nema svrbeža; 1 = blagi; 2 = umjeren; 3 = snažan svrbež). Minimalna postignuta vrijednost iznosi 0, a maksimalna 42 (prilog 3). Prema dobivenim UAS7 vrijednostima, KSU-u se klasificira kao blagi, umjereni i teški oblik KSU-e. Ukoliko su vrijednosti UAS7 do 15, KSU je blažeg oblika, vrijednosti od 16 do 27 upućuju na umjereni oblik KSU-e, a vrijednosti UAS7 više od 28 na teški klinički oblik KSU-e.

Potom se za procjenu učinkovitosti liječenja KSU-e i kontrole bolesti terapijom, koristio kontrolni test urtikarije (*Urticaria Control Test, UCT*), standardizirani upitnik koji ima značajnu primjenu u liječenju KSU jer daje informacije o tome koliko je urtikarija kontrolirana određenom terapijom tijekom posljednja četiri tjedna (prilog 4) (38). Upitnik se sastoji od četiri pitanja: pitanje o učestalosti pojave simptoma i znakova urtikarije (urtika/angioedema i svrbeža), utjecaja na kvalitetu života, učinkovitosti terapije i procjene je li bolest adekvatno kontrolirana terapijom u posljednjih mjesec dana. Pitanja se odnose na učestalost pojave urtika/angioedema i svrbeža, na utjecaj KSU-e na kvalitetu života i mišljenja bolesnika o kontroli bolesti. Odgovori se boduju vrijednostima od 0 do 4. Pritom je za bolesnika maksimalan broj bodova koji se može postići 16, a minimalan 0. Veći broj bodova ukazuje na bolju kontrolu bolesti (38).

Osim procjene težine i aktivnosti KSU-e, bolesnici su također ispunili dermatološki upitnik procjene kvalitete života (*The Dermatology Life Quality Index, DLQI*) – standardizirani upitnik koji uključuje deset pitanja o utjecaju bolesti na svakodnevni život, kao i o utjecaju bolesti na izvršavanje radnih obaveza, bavljenje hobijima i ostalim slobodnim aktivnostima, kao i o utjecaju na odnose s drugim osobama i na kvalitetu spavanja tijekom proteklog tjedna (prilog 5) (3). Vrijednosti DLQI-a se izračunavaju zbrajanjem bodova dobivenih odgovaranjem na svako pitanje,

pri čemu odgovor “vrlo mnogo” vrijedi tri boda, “mnogo” dva boda, “malo” jedan bod, a “nimalo” nula bodova. Minimalan rezultat DLQI-a koji se može postići iznosi nula bodova, a maksimalan 30 bodova. Što je rezultat DLQI-a veći, kvaliteta života bolesnika više je narušena.

Bolesnici su također ispunili upitnik koji je dao informacije o kvaliteti njihova sna, hrvatskom inačicom “*Pittsburgh Sleep Quality Index*” (PSQI) (prilog 6) (118). Navedeni upitnik se odnosi na uobičajene navike spavanja posljednjih mjesec dana, a služi procjeni kvalitete spavanja i poremećaja spavanja. PSQI analizira devetnaest pojedinačnih stavki podijeljenih u sedam "komponentnih" rezultata koji obuhvaćaju procjenu subjektivne kvalitete spavanja, latenciju spavanja, trajanje spavanja, uobičajenu učinkovitost spavanja, poremećaje spavanja, korištenje lijekova za spavanje i dnevnu disfunkciju (118). Odgovori PSQI-a na pitanja boduju se od nula do tri, gdje nula označava da nije bilo poteškoća, a tri da su bile prisutne ozbiljne poteškoće. Ukupni bodovi iznose od 0 do 21, a rezultat u PSQI-u  $> 5$  upućuje da postoji značajni poremećaj spavanja.

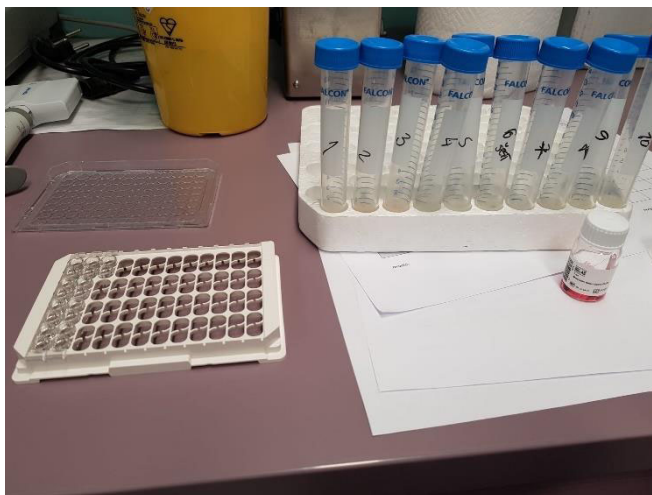
Ispitivana skupina bolesnika s KSU-om ispunila je navedena četiri upitnika: UAS7, UCT, DLQI i PSQI, pri čemu su DLQI i PSQI ispunjeni točno na dan uzimanja uzorka sline. Kontrolna skupina, zdravi ispitanici, ispunjavala je samo DLQI i PSQI upitnike također na dan uzimanja uzorka sline.

### **3.2.3. Određivanje salivarnoga melatonina ELISA testom**

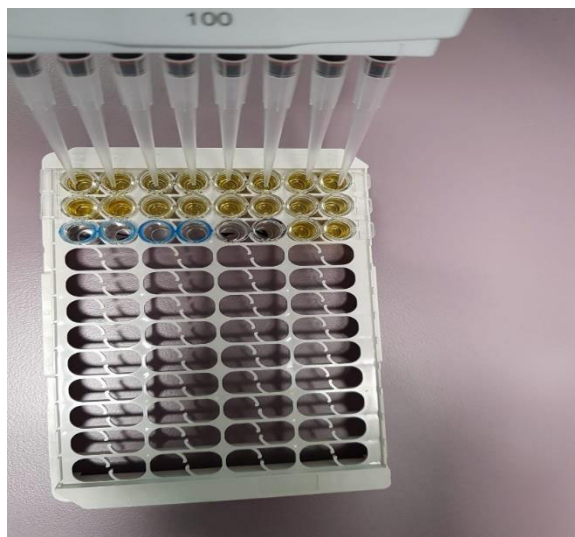
Razine melatonina u slini određivane su ELISA testom u Kliničkom zavodu za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice primjenom odgovarajućih reagensa (BÜHLMANN Laboratories AG), uz strogo praćenje uputa proizvođača. ELISA kit za salivarni melatonin koristi Kennaway G280 protutijela, uz prethodnu obradu uzorka natrijevim hidroksidom nakon čega slijedi neutralizacija klorovodičnom kiselinom (119). Komercijalni testovi treće generacije imaju vrlo visoku osjetljivost, reda veličine 1 pg/mL, za ELISA-u u plazmi i slini (119). Vrijednosti melatonina zabilježene su kao snižene ili normalne, pri čemu se snižena vrijednost melatonina u slini smatrala vrijednost niža od 4,2 pg/ml (119).

ELISA analiza je imunološki test koji se koristi za određivanje protutijela, antigena, proteina i glikoproteina u određenom biološkom uzorku (120). ELISA testovi se provode na pločama s 96 jažica, čime se omogućuje mjerenje više uzoraka. Ploče moraju biti posebno upijajuće kako bi se protutijelo ili antigen zalijepio za površinu. Svaki ELISA test mjeri specifični antigen, a kompleti za razne antigene su dostupni u prodaji (120). Postupak u ELISA analizi obuhvaća: premazivanje

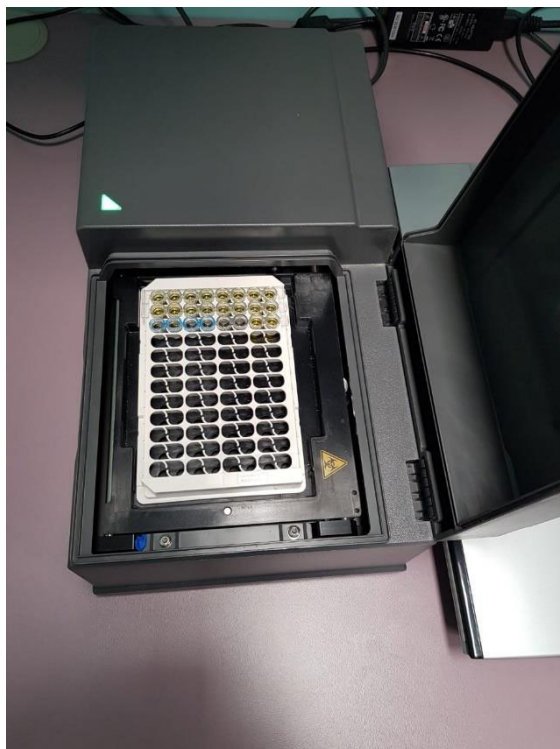
ELISA ploče s određenim protutijelom za hvatanje antigena, potom ispiranje viška protutijela i na kraju dodavanje uzorka u jažice (120). Antigen pronađen u uzorku će se vezati za protutijelo kojim je obložena ploča. Uzorci se dodaju u dva ili tri primjerka i u različitim koncentracijama. Višak uzorka se ispire s ploče. Nakon toga se dodaje protutijelo za detekciju antigena. Određivanje koncentracije antigena u uzorku zahtijeva izradu standardne krivulje pomoću poznate koncentracije određenih antigena (120). Uzorci su bili pohranjeni u specijaliziranom zamrzivaču, na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  do trenutka provođenja ELISA analize. Nakon odleđivanja uzorka sline, potrebno je centrifugirati uzorke deset minuta na 2000-3000 rpm da se uklone eventualni vidljivi komadići ostataka hrane. Minimalni potrebni volumen uzorka koji se direktno pipetira u jažice iznosi 0.5 ml (120). Uz pravilnu pripremu uzorka i puferske otopine za razrijeđenje, određenog sastava kita za melatonin, kao i pridržavanja protokola, omogućeno je mjerenje salivarnog melatonina u uzorcima bolesnika s KSU-om (prilog 7; sl. 12, 13, 14).



Slika 12. Priprema za ELISA-analizu. Uzorci nakon centrifugiranja i priprema za pipetiranje uzoraka na pločicu. U bočici s crvenom otopinom nalazi se biotin.



Slika 13. Dodavanje STOP-otopine uz razvijanje žute boje u ELISA analizi.



Slika 14. Očitavanje intenziteta obojenja otopine na 405 nm koristeći TECAN čitač ELISA pločica.

Metode istraživanja su jasno prikazane i metodologija istraživanja se može ponoviti. Odabir metode omogućuje postizanje zadanih ciljeva istraživanja i potvrdu, ili odbacivanje postavljene hipoteze. Očekivani rezultati ovog istraživanja su snižene vrijednosti melatonina u slini bolesnika s KSU-om i da bolesnici s težom kliničkom slikom imaju lošiju kvalitetu sna i lošiju kvalitetu života.

### 3.2.4. STATISTIČKE METODE

Normalnost razdiobe provjerena je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. S obzirom da podaci niti za jednu skupinu nisu slijedili normalnu distribuciju za usporedbu skalarnih varijabli, između dvije ispitivane skupine korišten je Mann-Whitneyev test, a veličina efekta kvantificirana je formulom  $r = \frac{z}{\sqrt{N}}$ . Za usporedbu skalarnih varijabli između više od dvije kategorije korišten je Kruskal-Wallisov test, a veličina efekta kvantificirana je po formuli  $\eta^2 = \frac{\chi^2}{N-1}$ . Za usporedbu frekvencija korišteni su Fisherov egzaktni test i  $\chi^2$  test, a veličina efekta kvantificirana je kao Cramerov V i Kendalov  $\tau$ . Za interpretaciju korišteni su sljedeći kriteriji: 0,14 - 0,36 = mala veličina efekta, 0,36 - 0,50 = umjerena te  $> 0,5$  = velika veličina efekta. Za interpretaciju  $\eta^2$  korištena je kvadrirana vrijednost  $r$ . Povezanost između varijabli analizirana je Spearmanovom korelacijom. Za interpretaciju su korišteni sljedeći kriteriji:  $r > 0,9$  ukazuje na vrlo jaku korelaciju, 0,7 - 0,9 jaku, 0,5 - 0,7 umjerenu, a 0,25 - 0,5 slabu korelaciju. Interpretirane su vrijednosti  $r > 0,250$  uz  $p < 0,05$ . Omjeri izgleda (OR) izračunati su s pripadajućim 95% CI za kategorijske prediktore. Za interpretaciju omjera izgleda OR = 1.5 se smatrao blagim, odnosno malim,  $> 3$  umjerenim, a  $> 9$  velikim. Multipla linearna regresija korištena je za procjenu prediktora razine salivarnoga melatonina. Sve analize načinjene su u komercijalnom softveru IBM SPSS 22 (IBM Corp, Armonk, SAD).

**REZULTATI**

Prema dobivenim rezultatima, uzorak je činilo 76 ispitanika (38 bolesnika s KSU-om i 38 zdravih ispitanika), u dobi od 19 do 63 godine (medijan 40, interkvartilni raspon 27-50), od čega 89,5% žena. Pritom je uključen jednak broj ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj skupini (N=38), kao i jednak udio žena u obje skupine.

Opis uzorka prikazan je u tbl. 6-8.

Tablica 6. Deskriptivna statistika cijelog uzorka (N=76)

Varijabla	Interkvartilni				
	Medijan	raspon	AS±SD	Min	Max
Dob	40,0	27,0-50,0	39,8±13,0	19	63
DLQI	0,0	0,0-6,0	3,7±5,8	0	24
PSQI	8,0	4,0-13,8	10,5±8,3	2	33
salivarni melatonin	1,54	0,20-21,09	9,18±11,60	0,20	39,21

AS- aritmetička sredina; SD-standardna devijacija

Tablica 7. Deskriptivna statistika uzorka s kroničnom spontanom urtikarijom (N=38)

Varijabla	Interkvartilni				
	Medijan	raspon	AS±SD	Min	Max
Dob	41,5	28,8-51,0	40,6±12,8	19	62
Trajanje bolesti	15,0	5,0-36,0	21,2±22,0	2	120
Urtike	8,0	3,0-15,0	9,2±7,0	0	21
Svrbež	9,0	2,8-15,3	9,4±7,1	0	21
UAS	14,0	6,8-30,5	18,0±13,6	0	42
DLQI	6,0	2,0-10,0	7,4±6,3	0	24
PSQI	12,0	7,3-21,5	14,5±9,3	2	33
salivarni melatonin	0,20	0,20-0,43	1,98±5,44	0,20	26,12

AS-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija

Tablica 8. Deskriptivna statistika kontrolne zdrave skupine (N=38)

Varijabla	Interkvartilni				
	Medijan	raspon	AS±SD	Min	Max
Dob	37,5	26,0-50,0	38,9±13,2	22	63
DLQI	0,0	0,0-0,0	0,0±0,0	0	0
PSQI	5,5	3,0-9,0	6,5±4,4	2	21
salivarni melatonin	15,85	5,17-26,90	16,38±11,69	0,20	39,21

AS- aritmetička sredina; SD-standardna devijacija

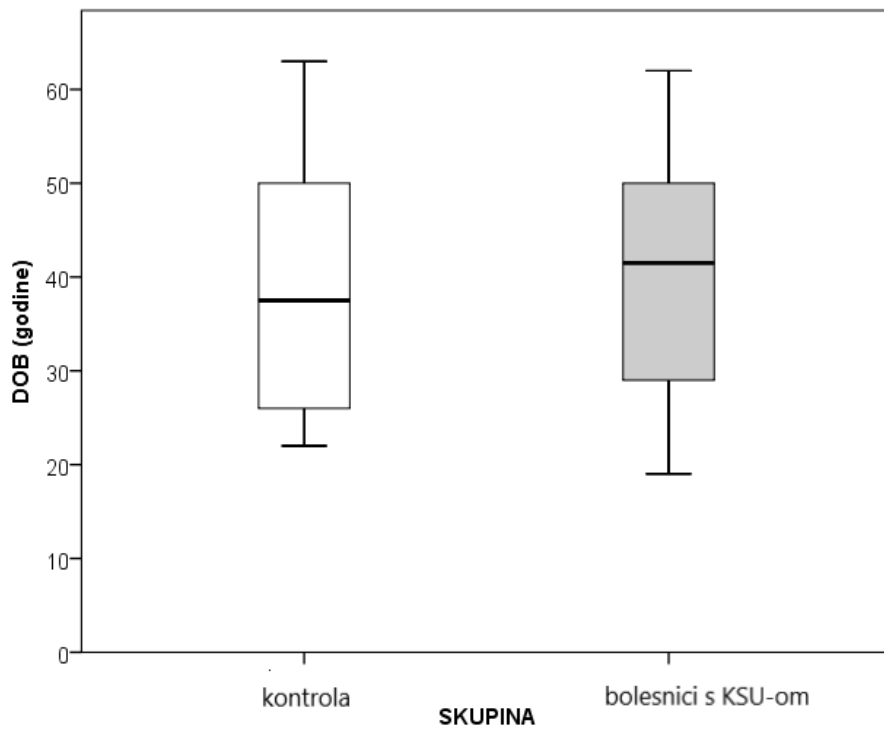
Ispitivana skupina bolesnika i kontrolna zdrava skupina nisu se razlikovale po dobi i spolu (tbl. 9, sl. 15). Bolesnici s KSU-om imali su značajno veću narušenost dermatološke kvalitete života i lošiji san od zdravih osoba uz umjerenu do veliku snagu efekta ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,489-0,882$ ; tbl. 9, sl. 16-18). Svi zdravi ispitanici imali su vrijednost DLQI = 0. Loša kvaliteta sna bila je značajno češće uočena u bolesnih, nego u zdravih (29/39 vs. 19/30;  $p = 0,031$ ;  $V = 0,273$ ; sl.17 i 18). Vjerojatnost za lošu kvalitetu sna bio je 3,2 puta veći u osoba s KSU-om (OR = 3,2; 95% CI 1,2-8,6), nego u zdravih ispitanika kontrolne skupine.

Tablica 9. Usporedba dobi, dermatološke kvalitete života, kvalitete sna i salivarnog melatonina između skupina

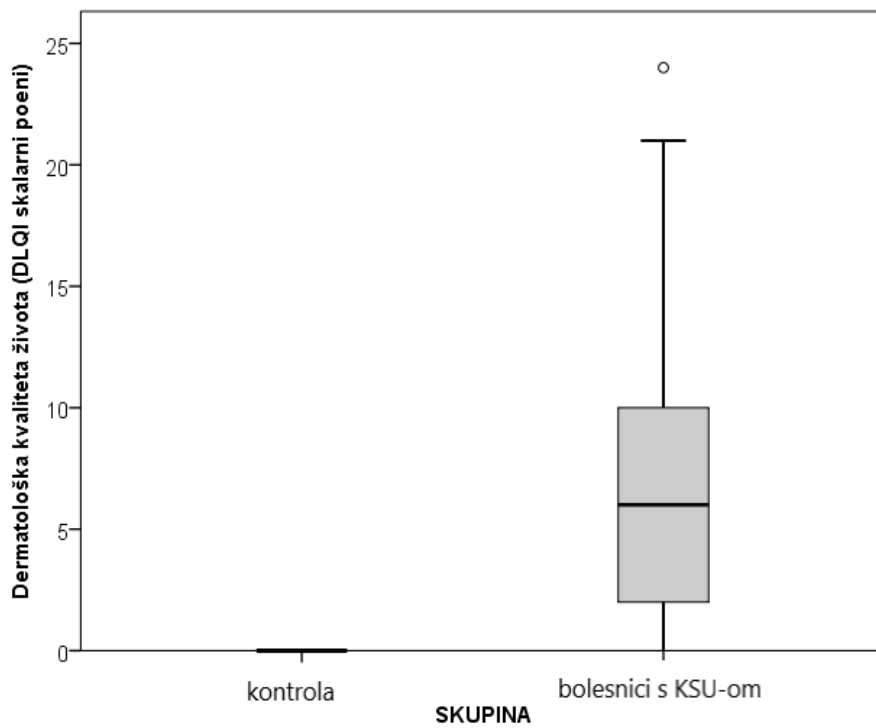
Varijabla	Kontrola	Bolesnici	p	r
	[medijan(IQR)]	[medijan(IQR)]		
Dob	37,5 (26,0-50,0)	41,5 (28,8-51,0)	0,543	0,070
DLQI	0,0 (0,0-0,0)	6,0 (2,0-10,0)	<0,001	0,882
PSQI	5,5 (3,0-9,0)	12,0 (7,3-21,5)	<0,001	0,489
Melatonin	15,85 (5,17-26,90)	0,2 (0,2-0,43)	<0,001	0,669

IQR-interkvartilni raspon; p=Mann-Whitneyev test; r=veličina efekta.

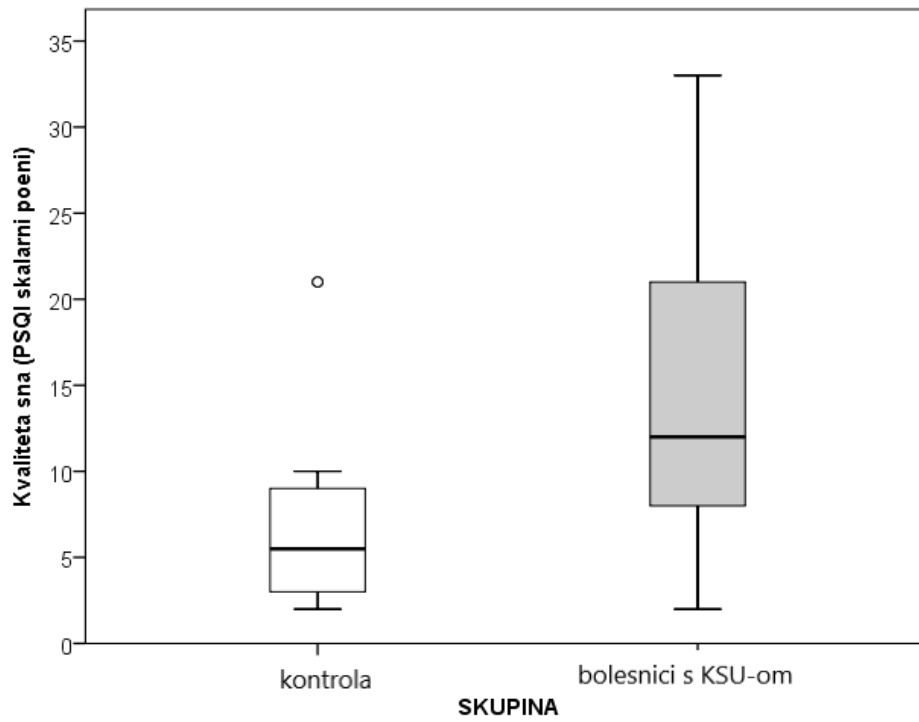




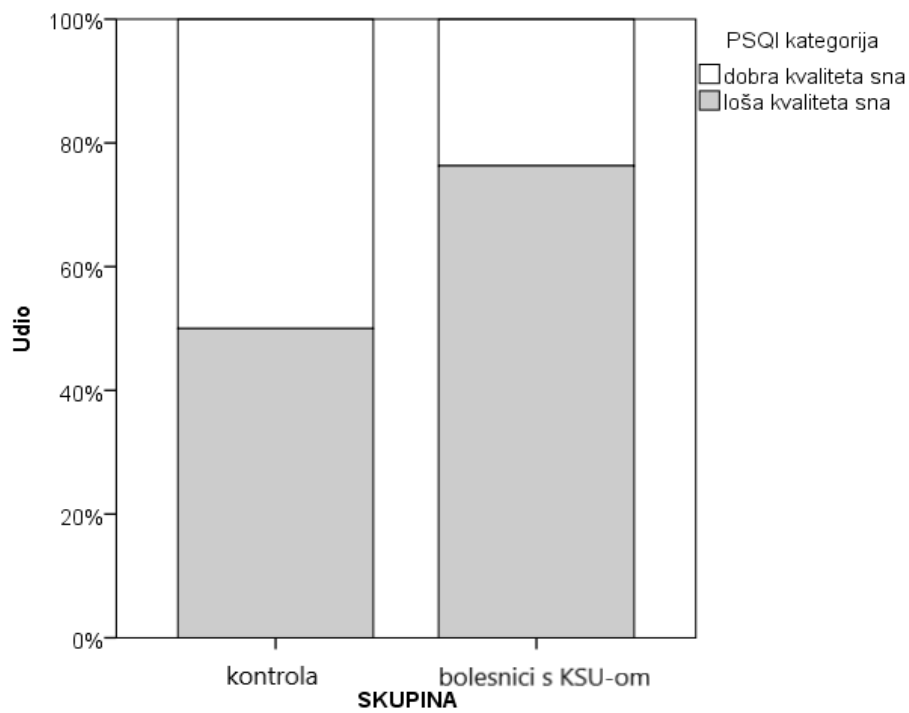
Slika 15. Usporedba skupina po dobi



Slika 16. Usporedba dermatološke kvalitete života između dviju skupina



Slika 17. Usporedba intenziteta kvalitete sna između dviju skupina

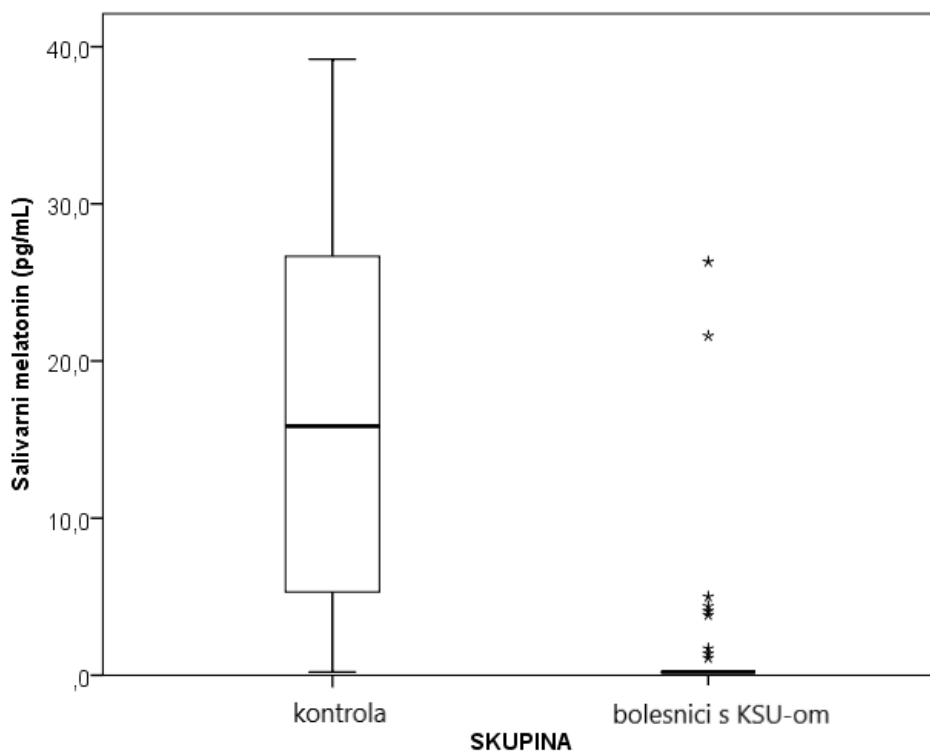


Slika 18. Usporedba kategorija kvalitete sna između dviju skupina

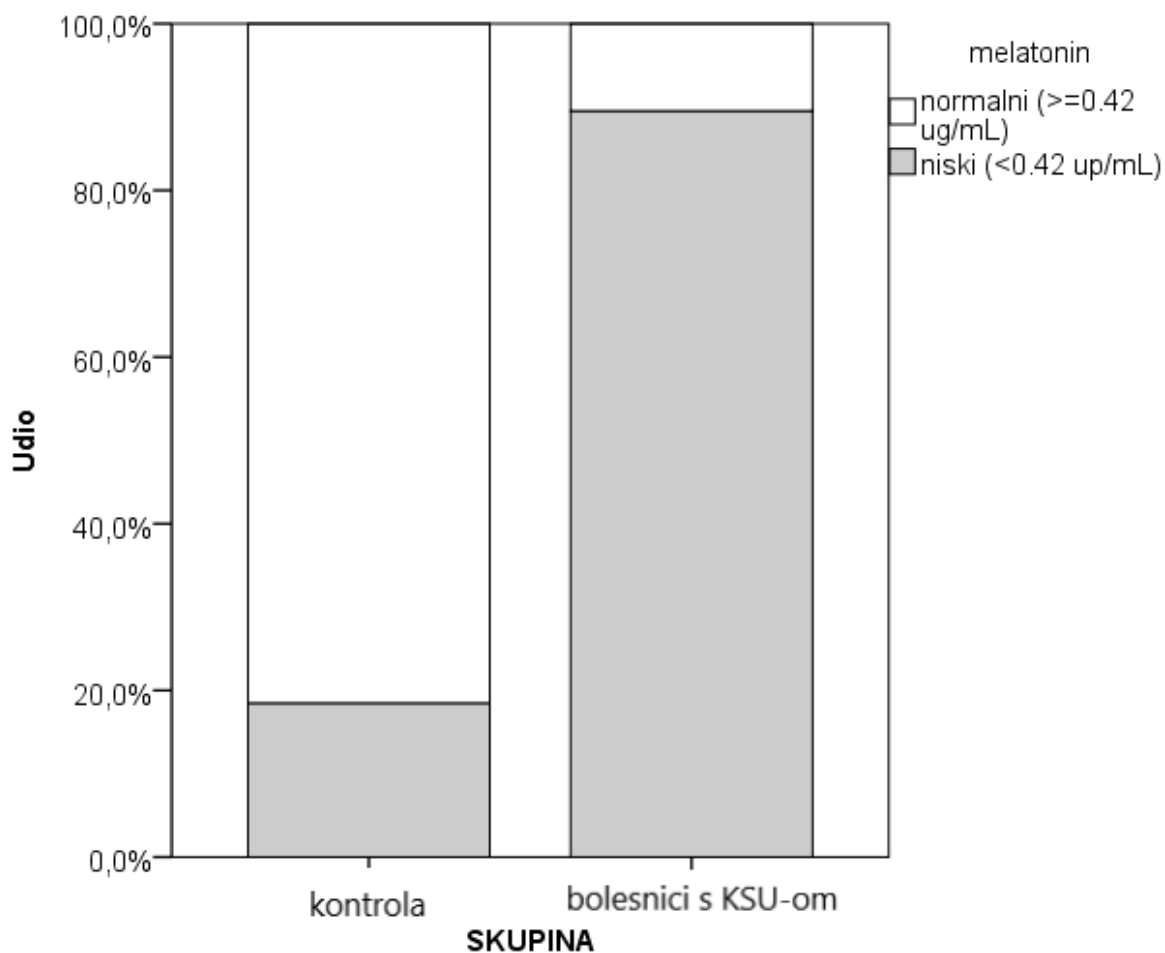
## Ciljevi:

### 1) odrediti vrijednosti melatonina u slini bolesnika s KSU-om i usporediti ih s vrijednostima zdravih ispitanika (kontrolna skupina)

Srednja vrijednost salivarnog melatonina u osoba KSU-om statistički je znatno niža od one u zdravih osoba uz veliku snagu efekta (0,2 vs. 15,85 pg/mL;  $p < 0,001$ ;  $r = 0,669$ ; tbl. 11, sl. 19). Niski salivarni melatonin dokazan je u znatno više bolesnika s KSU-om (34/38 bolesnih), nego u zdravih ispitanika (7/38 zdravih) ( $p < 0,001$ ,  $V = 0,713$ ; sl. 20). Pritom je izgled za pojavu KSU-e jako velik u osoba s niskim melatoninom, tj. 37.6 puta veći nego u onih s visokim melatoninom (OR = 37,6; 95% CI 10,0-141,1).



Slika 19. Usporedba razine salivarnog melatonina između dviju skupina



Slika 20. Usporedba prevalencije niske razine salivarnog melatonina između dviju skupina

Gledajući vrijednosti melatonina u odnosu na spol i dob, njegove vrijednosti nisu ovisile niti o spolu niti o dobi. Također, prevalencija niske vrijednosti melatonina nije se razlikovala među spolovima (tbl. 10). Pritom se interpretira samo  $r > 0,25$  uz  $p < 0,05$ .

Gledajući ukupni uzorak, melatonin je linearno negativno umjereno korelirao s DLQI ( $r = -0,606$ ;  $p < 0,001$ ) i PSQI ( $r = -0,536$ ;  $p < 0,001$ ; tbl. 10). S porastom narušenosti dermatološke kvalitete života i porastom narušenosti kvalitete spavanja, snižava se vrijednost melatonina (bolja kvaliteta života i sna povezani su s višim vrijednostima salivarnog melatonina).

Tablica 10. Spearmanove korelacije na ukupnom uzorku (N=76)

varijabla		Melatonin	dob	DLQI	PSQI
melatonin	r	1	-0,231	-0,606	-0,536
	p	.	0,045	<0,001	<0,001
dob	r	-0,231	1	0,113	0,295
	p	0,045	.	0,329	0,010
DLQI	r	-0,606	0,113	1	0,535
	p	<0,001	0,329	.	<0,001
PSQI	r	-0,536	0,295	0,535	1
	p	<0,001	0,010	<0,001	.

## 2) istražiti povezanost težine bolesti i aktivnosti KSU-e s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika

Težina i aktivnost bolesti (UAS7) snažno su linearno pozitivno korelirali s kvalitetom života, a slabo linearno pozitivno korelirali s kvalitetom sna ( $r = 0,762$  i  $0,351$ ;  $p \leq 0,031$ ). S porastom težine bolesti, raste i narušenost kvalitete života i sna. Također, UAS7 je korelirao i s UCT-om, intenzitetom svrbeža i broja urtika, a nije korelirala s trajanjem KSU-e i dobi.

Kontrola bolesti (UCT) je linearno negativno slabo korelirala s kvalitetom života ( $r = -0,454$ ;  $p = 0,004$ ), ali nije korelirala s kvalitetom sna. S porastom kontrole KSU-e, smanjuje se narušenost kvalitete života bolesnika. Također, UCT je još korelirao s UAS7-om, intenzitetom svrbeža i brojem urtika, a nije korelirao s trajanjem bolesti i dobi.

Trajanje bolesti nije linearno koreliralo s kvalitetom života, spavanjem niti koncentracijom melatonina. Kada se trajanje bolesti dihotomiziralo s graničnikom 12 mjeseci, nije bilo znatnih razlika u kvaliteti života, kvaliteti sna, dobi i vrijednostima UCT-a i UAS7-a.

Kvaliteta života je snažnije korelirala s intenzitetom svrbeža ( $r = 0,740$ ), nego s brojem urtika ( $r = 0,646$ ). Kvaliteta spavanja značajno je korelirala s intenzitetom svrbeža ( $r = 0,364$ ), ali nije korelirala s brojem urtika, dok koncentracija salivarnoga melatonina nije korelirala ni sa svrbežom ni s urtikama.

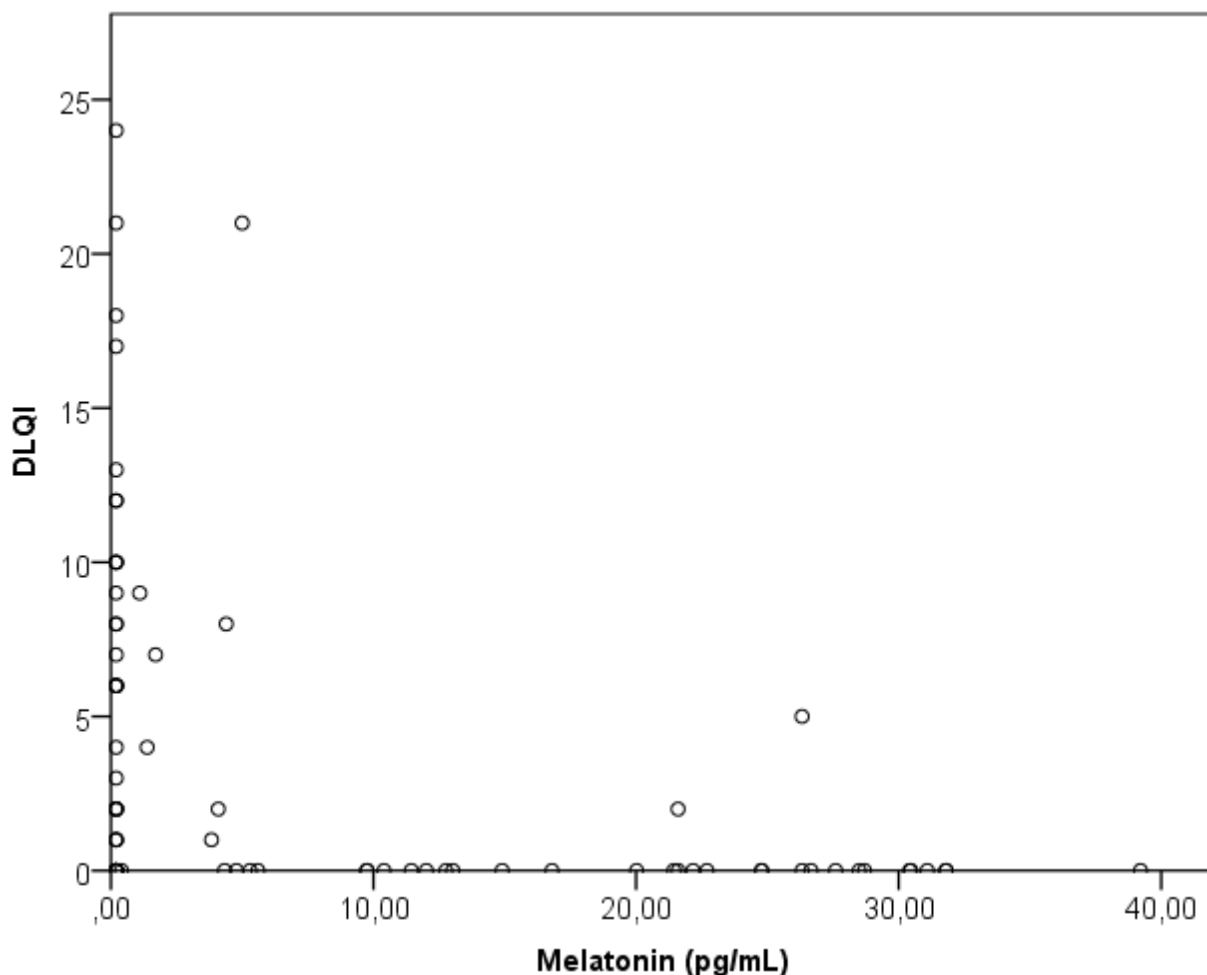
Tablica 11. Spearmanove korelacije na uzorku bolesnika s KSU-om (N=38)

		melatonin	Dob	DLQI	PSQI	trajanje bolesti	UAS	Urtike	svrbež	UCT
melatonin	R	1	-0,130	-0,075	0,004	0,036	-0,085	-0,180	0,015	0,092
	P	.	0,435	0,655	0,981	0,830	0,613	0,280	0,928	0,584
dob	R	-0,130	1	0,267	0,370	0,108	0,194	0,171	0,120	-0,049
	P	0,435	.	0,105	0,022	0,520	0,244	0,306	0,472	0,770
DLQI	R	-0,075	0,267	1	0,453	-0,129	0,762	0,646	0,740	-0,454
	P	0,655	0,105	.	0,004	0,440	<0,001	<0,001	<0,001	0,004
PSQI	R	0,004	0,370	0,453	1	-0,172	0,351	0,269	0,365	-0,205
	P	0,981	0,022	0,004	.	0,302	0,031	0,103	0,024	0,216
trajanje bolesti	R	0,036	0,108	-0,129	-0,172	1	-0,136	-0,204	-0,154	0,187
	P	0,830	0,520	0,440	0,302	.	0,416	0,218	0,356	0,261
UAS	R	-0,085	0,194	0,762	0,351	-0,136	1	0,943	0,889	-0,438
	P	0,613	0,244	<0,001	0,031	0,416	.	<0,001	<0,001	0,006
urtike	R	-0,180	0,171	0,646	0,269	-0,204	0,943	1	0,847	-0,434
	P	0,280	0,306	<0,001	0,103	0,218	<0,001	.	<0,001	0,006
svrbež	R	0,015	0,120	0,740	0,365	-0,154	0,889	0,847	1	-0,361
	P	0,928	0,472	<0,001	0,024	0,356	<0,001	<0,001	.	0,026
UCT	R	0,092	-0,049	-0,454	-0,205	0,187	-0,438	-0,434	-0,361	1
	P	0,584	0,770	0,004	0,216	0,261	0,006	0,006	0,026	.

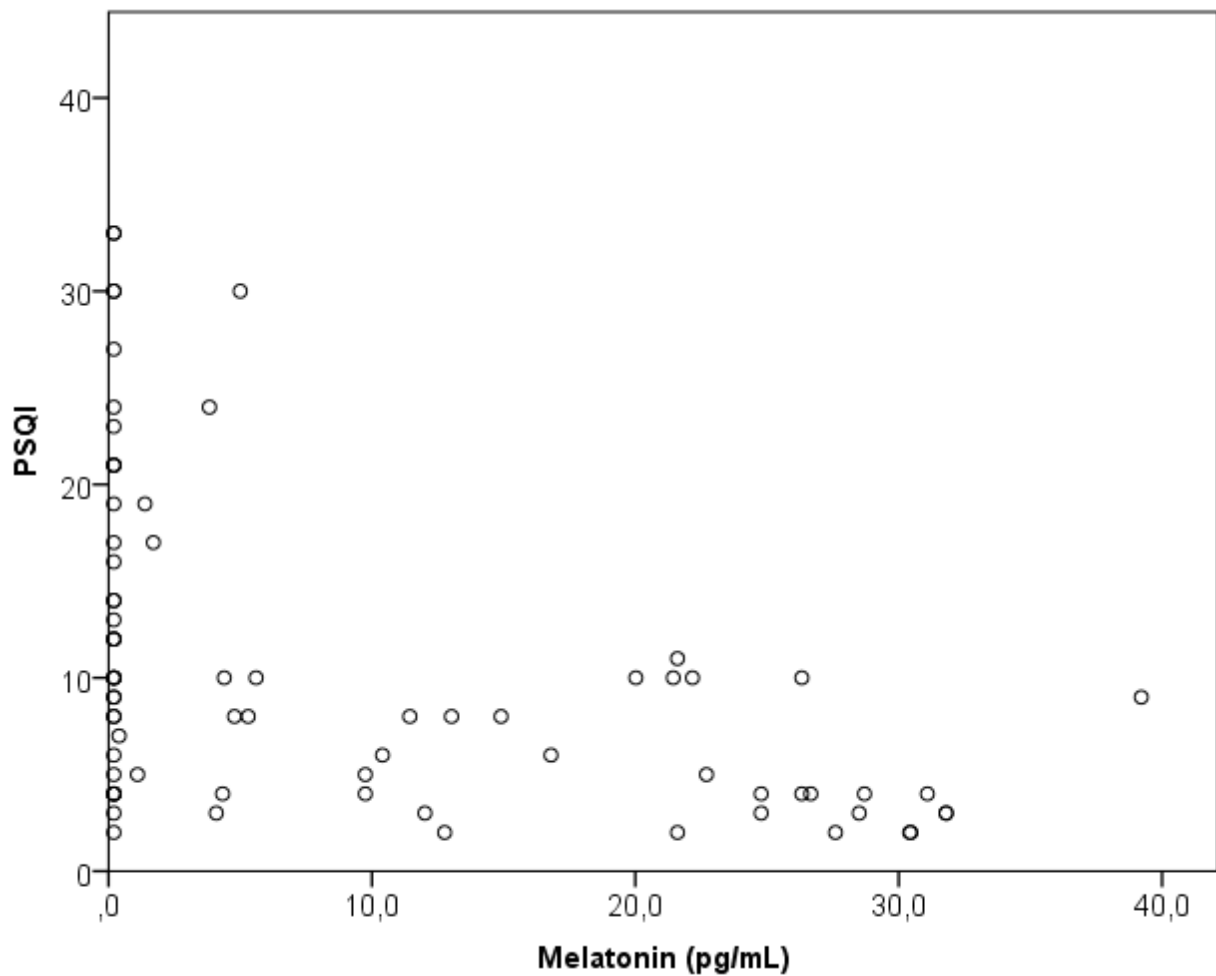
Dijagram raspršenja pokazuje da odnos melatonina i DLQI-a više predstavlja krivulju, nego linearni pravac. Prema obradi podataka, primjenom linearne regresije, za svako povećanje melatonina za 1 pg/mL, DLQI se smanjuje za 0,2 skalarna poena

( $y = 5,7 - 0,2x$ ;  $R^2 = 0,188$ ), dok je po logaritamskoj jednadžbi taj odnos izražen prema formuli  $y = 4,4 - 1,2 \ln(x)$  ( $R^2 = 0,218$ ; sl. 21). Statistički, vrijednost  $R^2$  potvrđuje da je bolje modeliranje odnosa koristeći se logaritamskom, nego linearnom jednadžbom.

Također, za prikaz odnosa melatonina i PSQI-a na ukupnom uzorku, dobiveni dijagram raspršenja pokazuje da taj odnos bolje opisuje eksponencijalna jednadžba ( $y = 10,9e^{-0,036x}$ ;  $R^2 = 0,279$ ), nego linearna ( $y = 13,6 - 0,3x$ ;  $R^2 = 0,219$ ; sl. 22).



Slika 21. Odnos salivarnoga melatonina i dermatološke kvalitete života (DLQI) prikazan dijagramom raspršenja na ukupnom uzorku (bolesnici s KSU-om i kontrolna skupina zajedno)



Slika 22. Odnos salivarnoga melatonina i kvalitete sna (PSQI) prikazan dijagramom raspršenja na ukupnom uzorku (bolesnici s i kontrolna skupina zajedno)

Ukoliko se kontrolira dob, spol i dermatološka kvaliteta života (DLQI) u mutiploj linearnoj regresiji, samo je kvaliteta sna značajni prediktor salivarnoga melatonina, a njen samostalni doprinos je 4,2%, dok veliki udio varijabiliteta kvaliteta sna dijeli s dermatološkom kvalitetom života (tbl. 12). Pritom, u uzorku bolesnika s KSU-om, multipla linearna regresija ne detektira značajne prediktore serumskoga melatonina.



Tablica 12. Multipla linearna regresija za prediktore melatonina na ukupnom uzorku (bolesnici s KSU-om + kontrolna skupina) (N=76)

	Nestandardizirani		Standardizirani		Korelacije		
	koeficijenti		koeficijenti		Nultog	Parcijal	Semipar
	B	SE	Beta	p	reda	na	cijalna
Konstanta	16,6	5,4					
Dob	-0,1	0,1	-0,1	0,285	-0,255	-0,127	-0,110
Spol (0=M, 1=Ž)	2,8	3,8	0,1	0,464	0,105	0,087	0,075
DLQI	-0,5	0,3	-0,2	0,096	-0,434	-0,196	-0,171
<b>PSQI</b>	<b>-0,4</b>	<b>0,2</b>	<b>-0,3</b>	<b>0,047</b>	-0,468	-0,233	-0,206

R=0,516; R<sup>2</sup>=0,266; Prilagođeni R<sup>2</sup>=0,225; p<0,001.

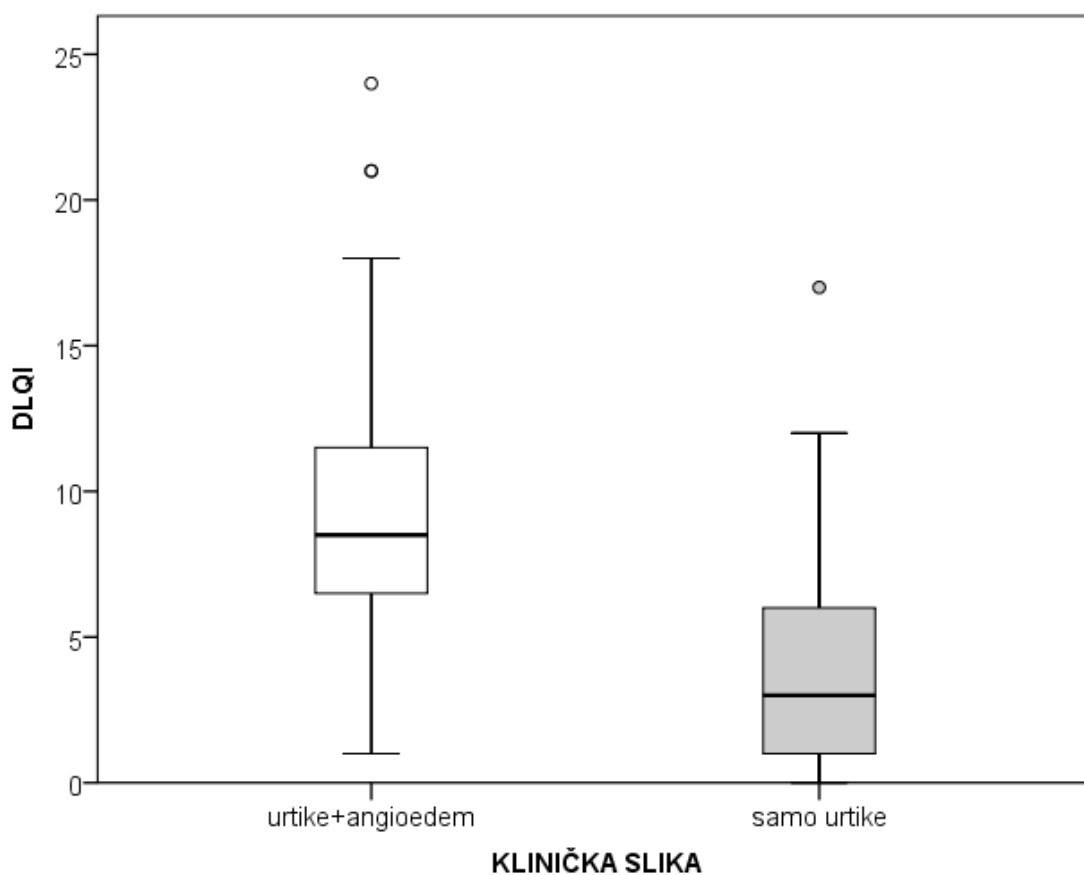
SE-standardna pogreška

**3) istražiti povezanost koncentracije melatonina u slini s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika s KSU-om**

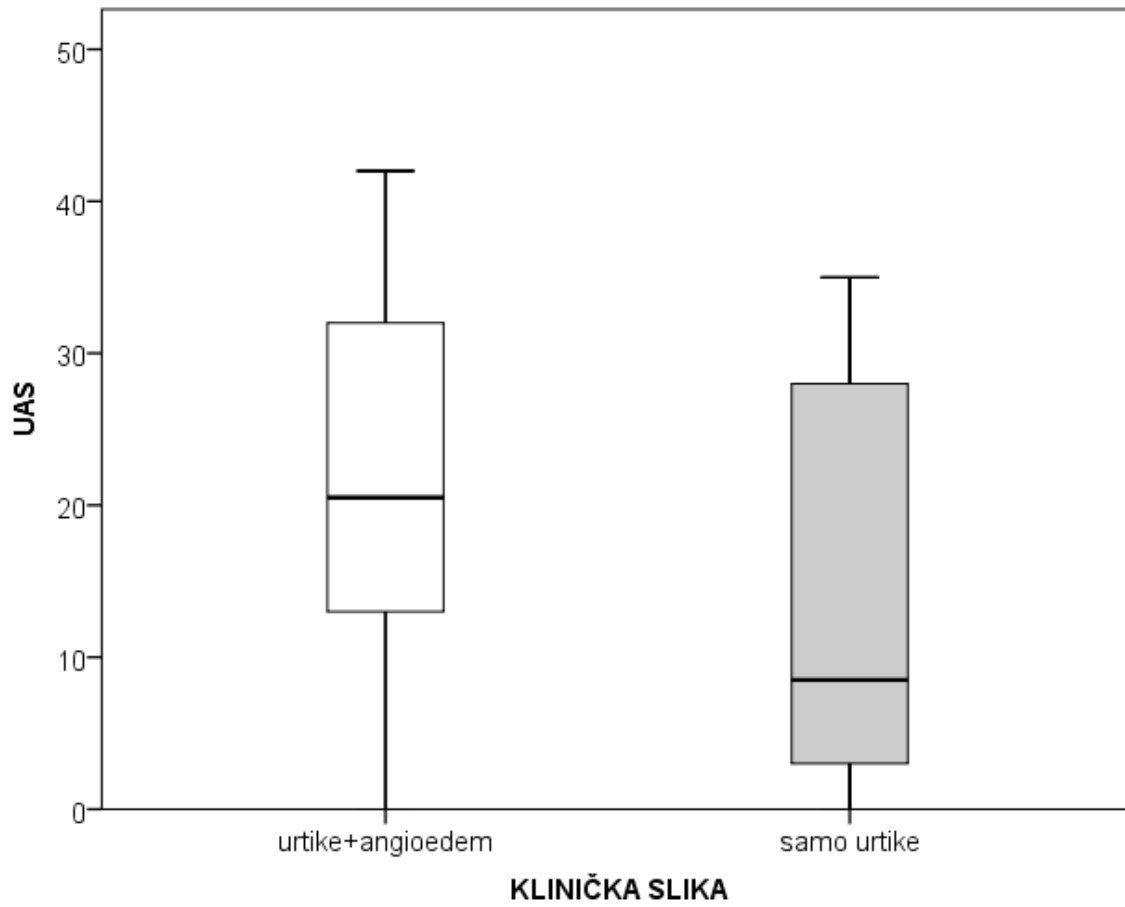
U skupini bolesnika s KSU-om, salivarni melatonin nije korelirao s dobi, dermatološkom kvalitetom života, kvalitetom spavanja, trajanjem bolesti, UAS7-om, brojem urtika, intenzitetom svrbežom niti UCT-om (tbl. 11).

### DODATNE ANALIZE IZVAN CILJEVA I HIPOTEZA

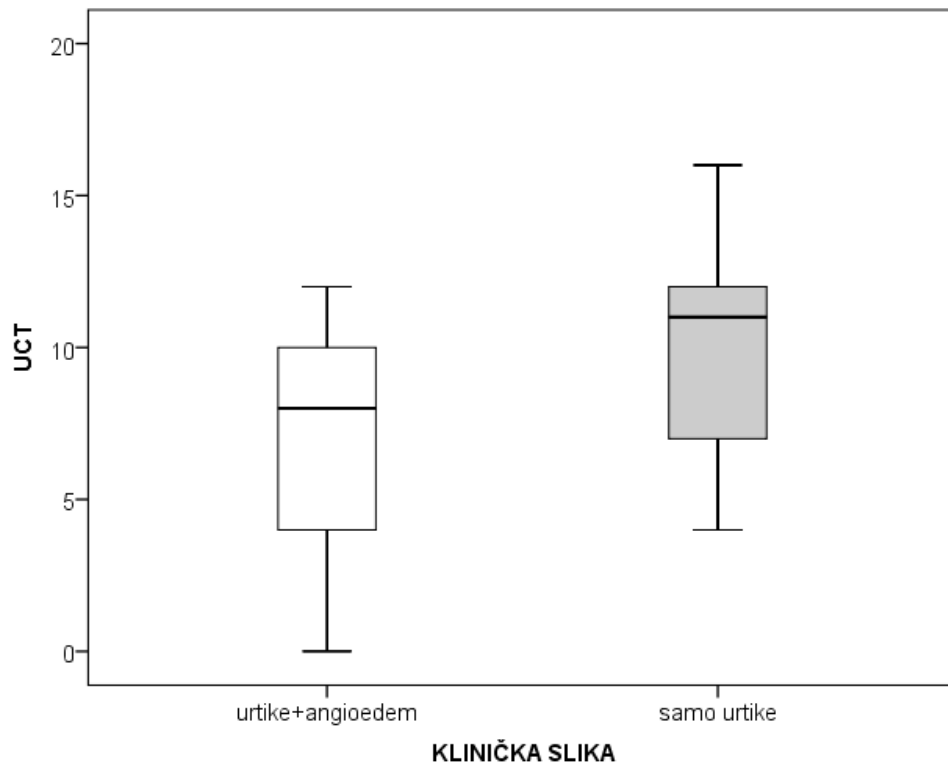
U kliničkoj slici, 37% bolesnika je imalo samo urtike, a ostalih 63% bolesnika je imalo urtike u kombinaciji s angioedemom. Bolesnici s kombinacijom urtika i angiodema imali su značajno narušeniju kvalitetu života ( $p = 0,004$ ;  $r = -0,471$ ), niži UCT ( $p = 0,017$ ;  $r = -0,387$ ), viši UAS7 ( $p = 0,014$ ;  $r = -0,397$ ), veći broj urtika ( $p = 0,042$ ;  $r = -0,331$ ) i jači intenzitet svrbeža ( $p = 0,005$ ;  $r = -0,459$ ; sl. 23, 24, 25), nego bolesnici sa samim urtikama. Snaga efekta (učinka) je bila veća za svrbež, nego za urtike, tj. kad su urtike praćene angioedemom, bolesnici imaju narušenu kvalitetu života više zbog intenziteta svrbeža, nego zbog brojnosti urtika. Nisu uočene značajne razlike u dobi, kvaliteti spavanja, vrijednostima melatonina i trajanju bolesti između bolesnika s urtikarijom i pratećim angioedemom i onih bez pratećeg angioedema.



Slika 23. Usporedba dermatološke kvalitete života između kliničkih slika



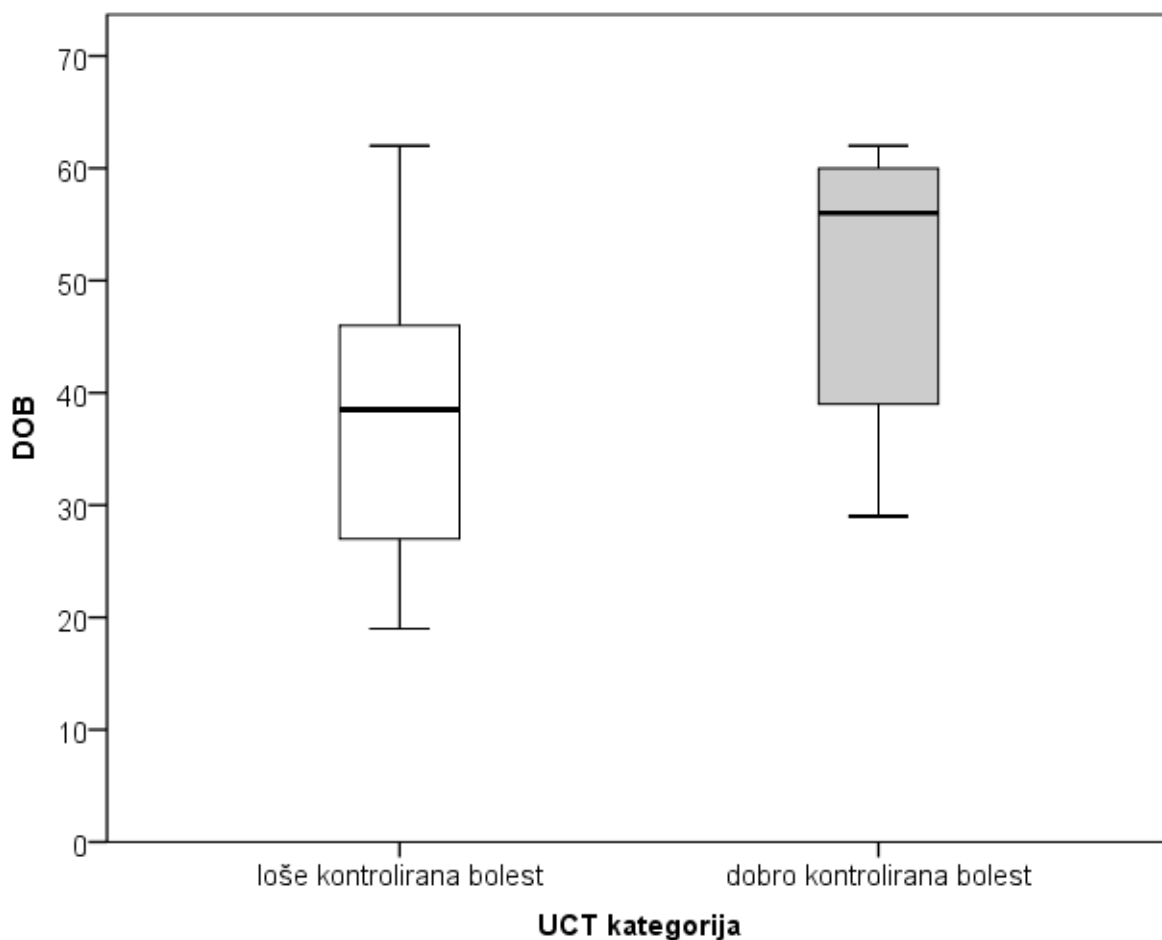
Slika 24. Usporedba aktivnosti bolesti između dviju kliničkih slika



Slika 25. Usporedba kontrole bolesti između dviju kliničkih slika

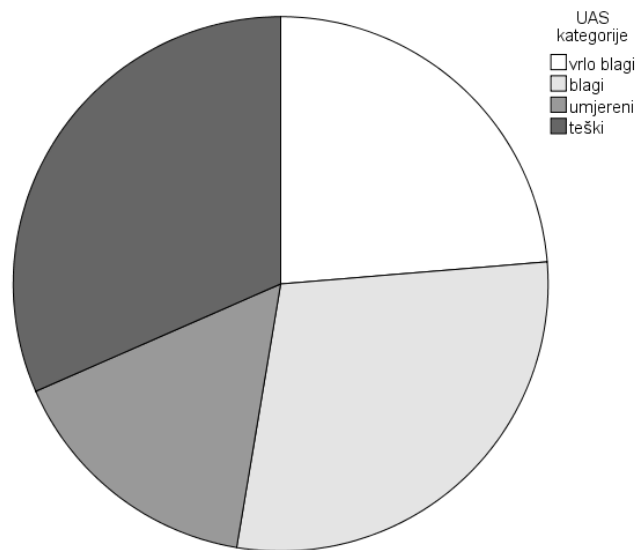
U bolesnika s KSU-om, njih 34/38 je imalo snižene vrijednosti koncentracije salivarnoga melatonina, a samo 4/38 bolesnika je imalo normalne njegove vrijednosti. Oboljeli s niskim melatoninom nisu se razlikovali niti u jednom promatranom parametru od onih s normalnim melatoninom.

Gledajući kontrolu bolesti, uočava se da su bolesnici s dobro kontroliranom bolesti bili značajno stariji od onih s lošom kontrolom bolesti ( $r = -p = 0,024$ ;  $r = -0,366$ ; sl. 26). U ostalim parametrima nije bilo značajnih razlika. Dobro kontroliranu KSU-u imalo je 8/38 ispitanika.

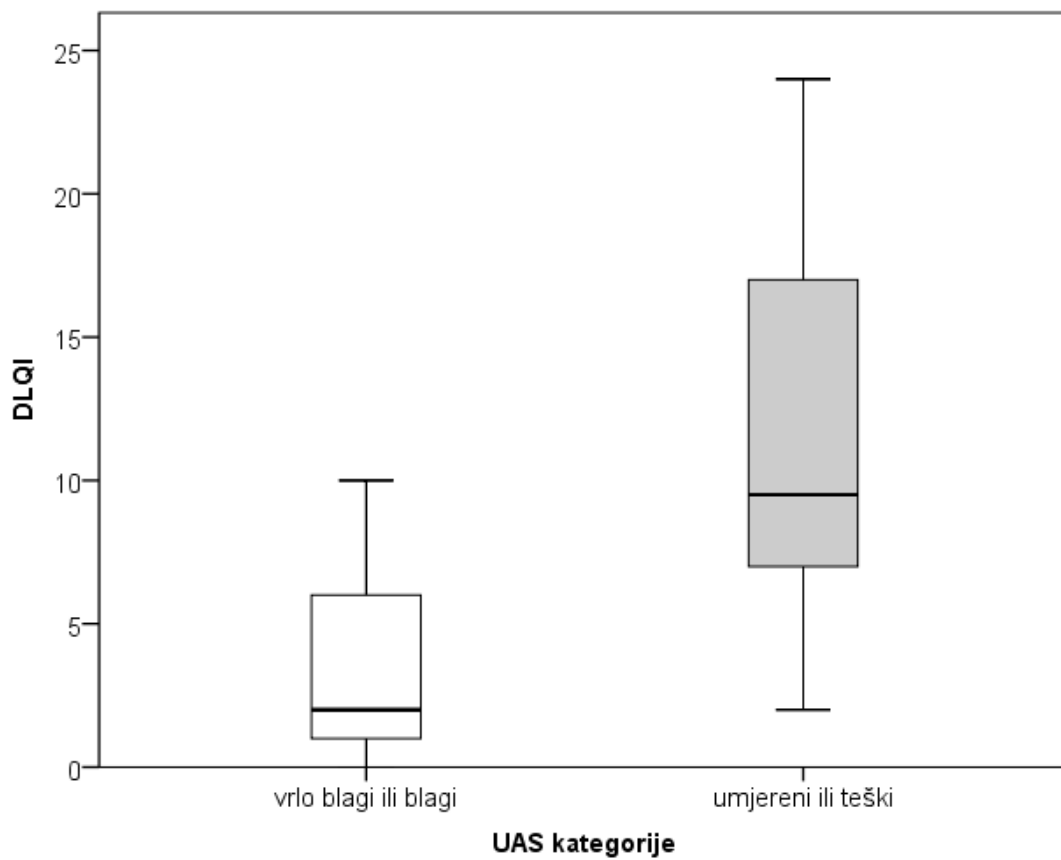


Slika 26. Usporedba dobi između skupina kontrole bolesti

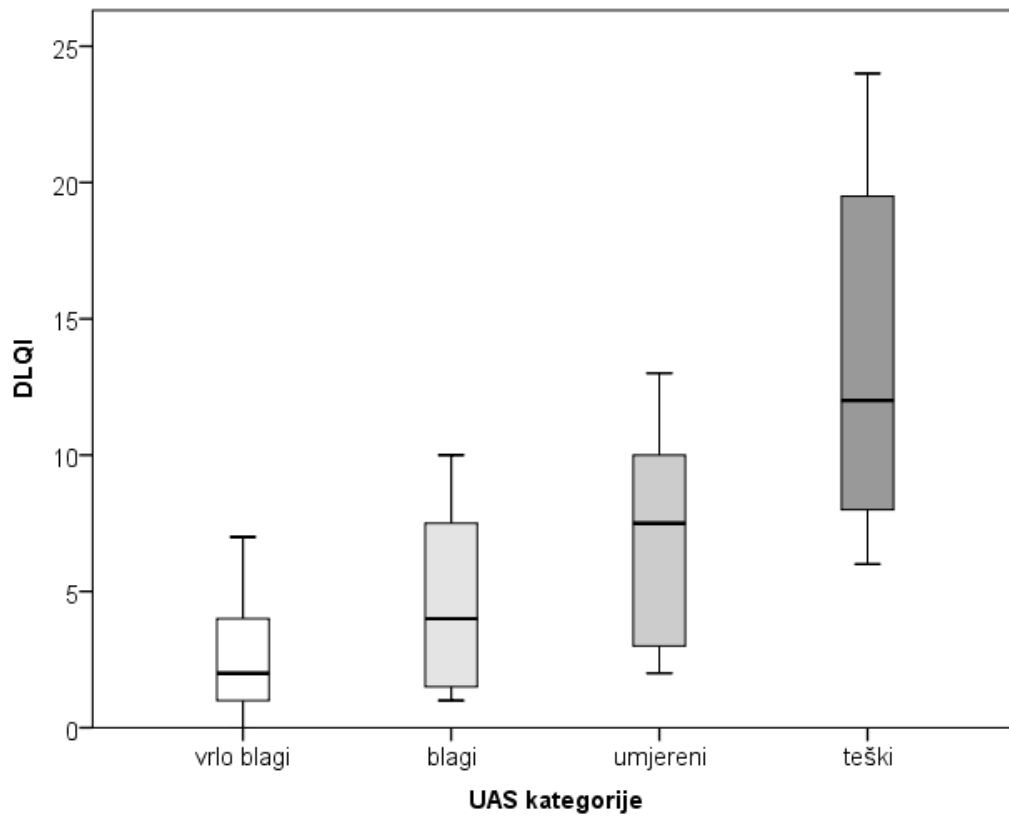
Gledajući težinu bolesti, uočava se da je vrlo blagi oblik KSU-e imalo 9/38, blagi 11/38, umjereni 6/38, a teški 12/38 ispitanika (sl. 27). Bolesnici s blažim oblikom bolesti (kategorije vrlo blagi i blagi) u odnosu na one s umjerenim ili teškim oblikom bolesti imali su niži DLQI ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,636$ ), manji broj urtika ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,806$ ) i manje izražen osjećaj svrbeža ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,756$ ), a viši UCT ( $p = 0,028$ ;  $r = -0,356$ ; sl. 28-33). Bolesnici s različitim kategorijama težine bolesti nisu se razlikovali po trajanju bolesti, vrijednostima salivarnoga melatonina niti kvaliteti spavanja, dok je dob bila na razini granične značajnosti povišena u osoba s umjerenim ili teškim oblikom bolesti, u odnosu na one s blagim oblikom bolesti.



Slika 27. Kategorije UAS7-a u uzorku ispitivane skupine

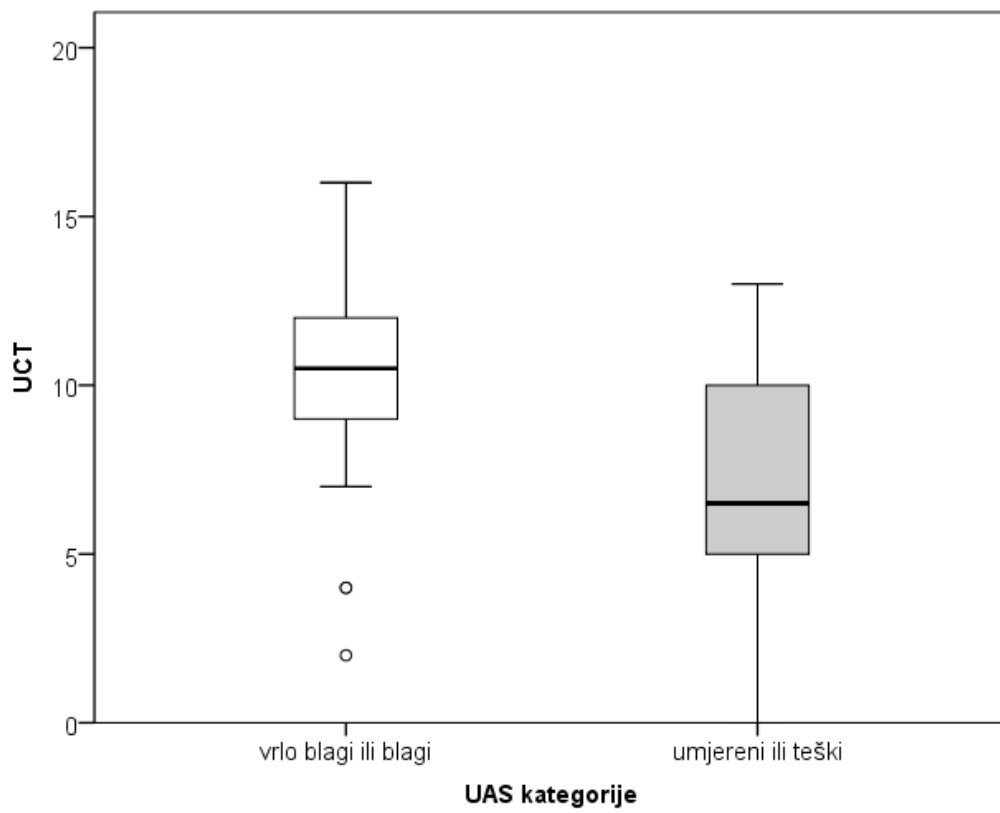


Slika 28. Usporedba kvalitete života bolesnika (DLQI) između dvije skupine težine KSU-e

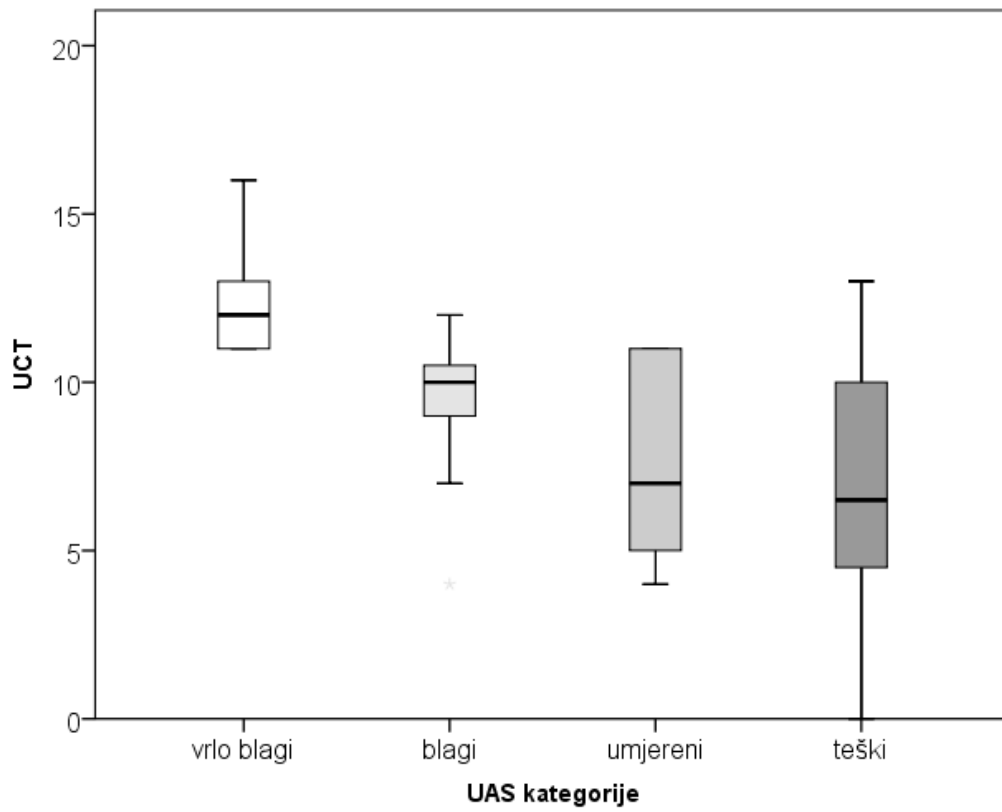


Slika 29. Usporedba kvalitete života bolesnika (DLQI) između četiri skupine težine KSU-e

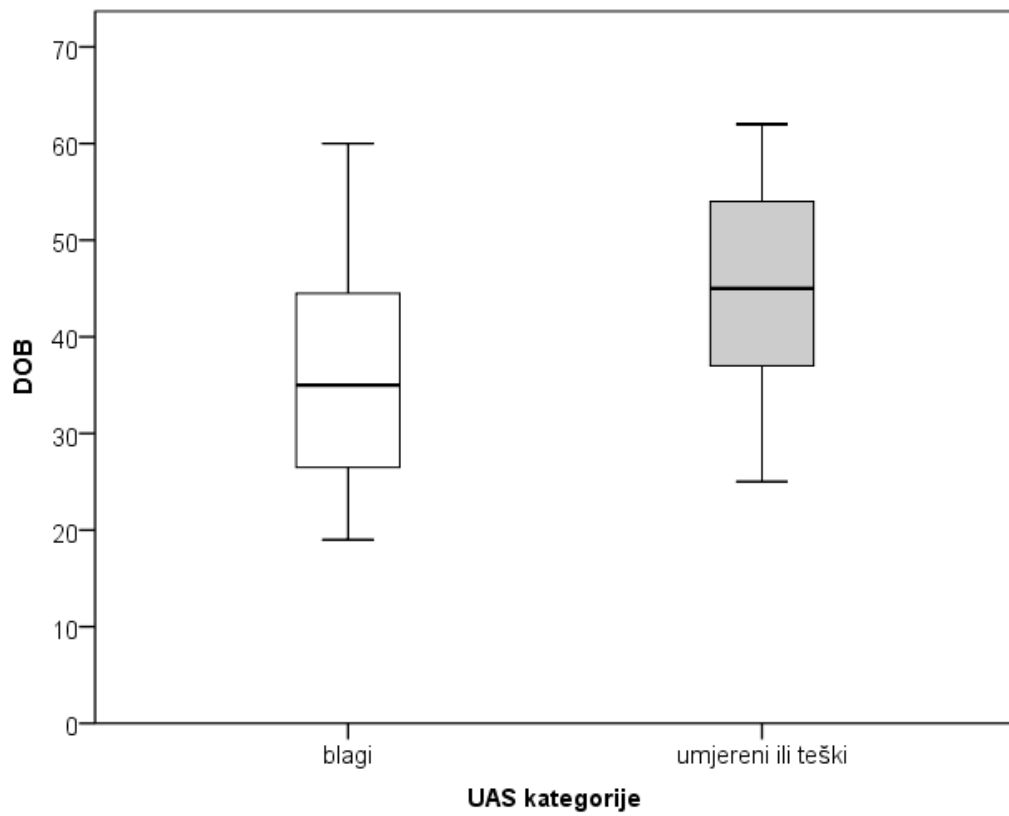




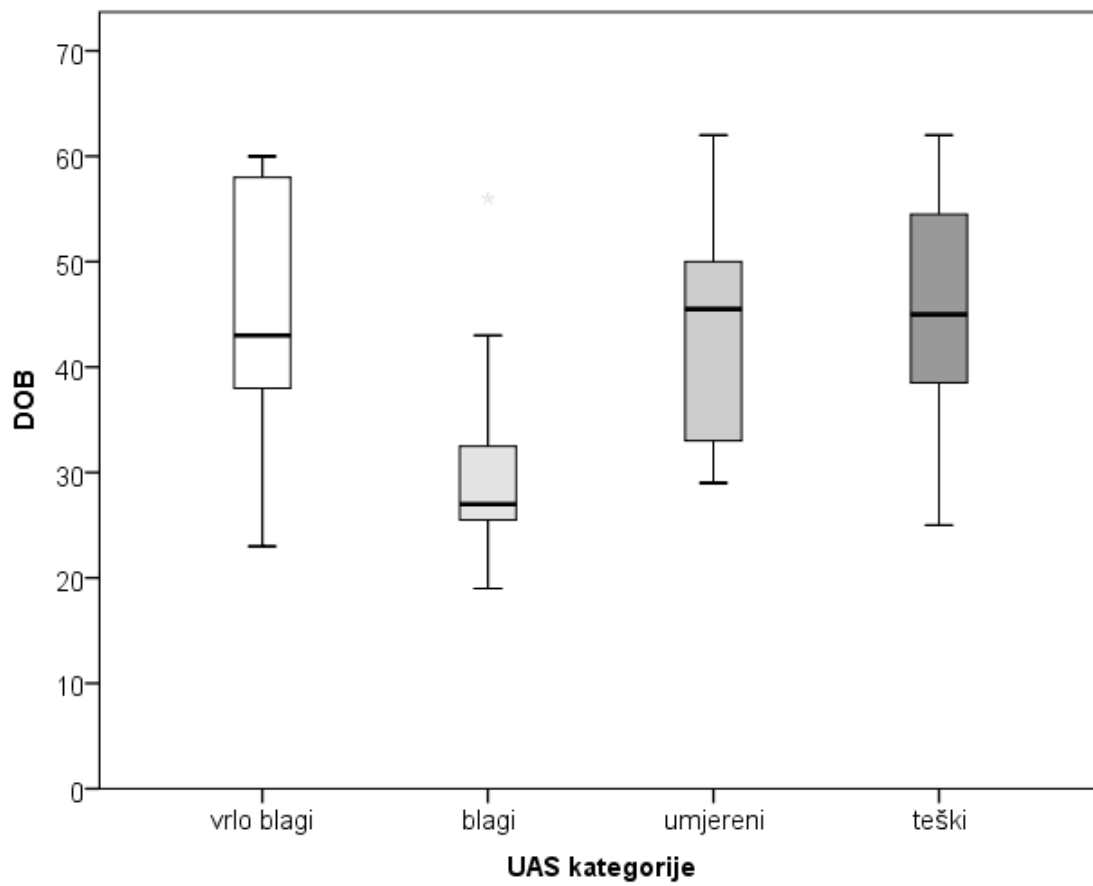
Slika 30. Usporedba intenziteta kontrole bolesti(UCT-a) između dvije kategorije težine kliničke slike KSU



Slika 31. Usporedba intenziteta kontrole bolesti (UCT-a) između četiri kategorije težine kliničke slike KSU-e



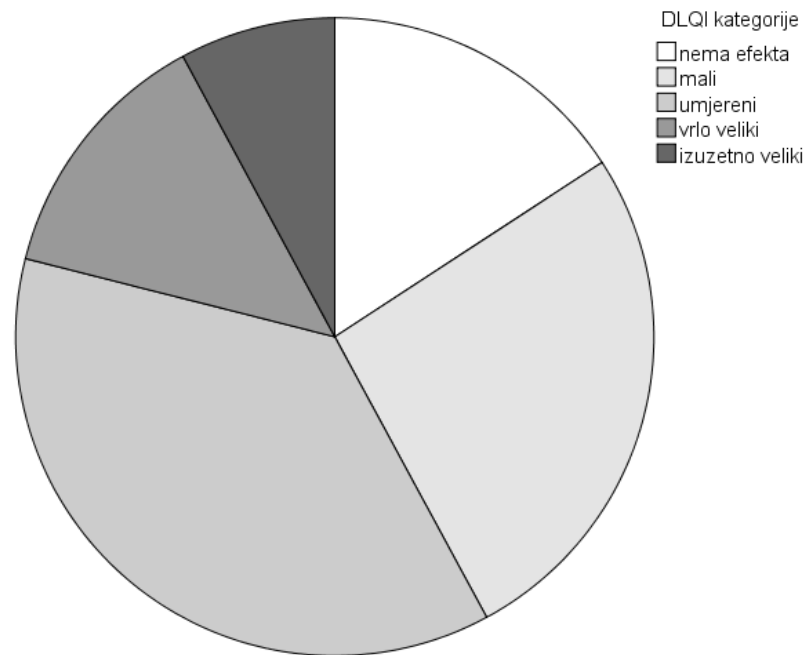
Slika 32. Usporedba dobi bolesnika između dvije kategorije težine kliničke slike KSU-e



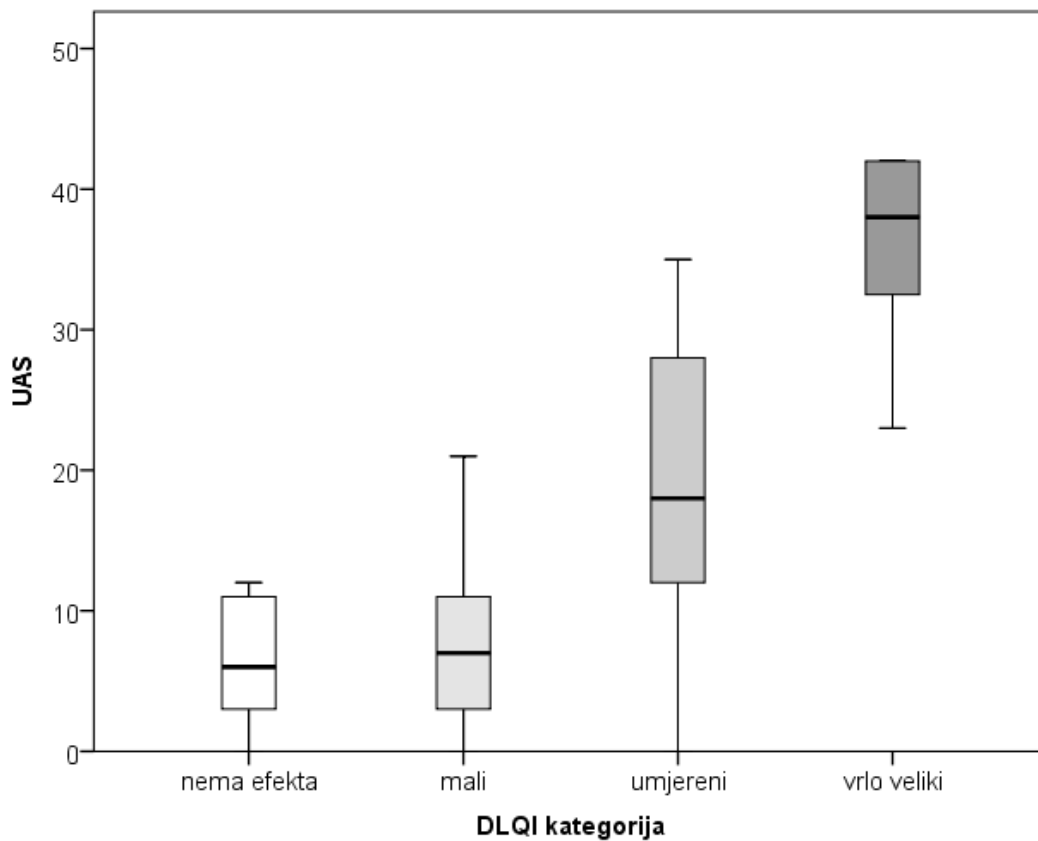
Slika 33. Usporedba dobi bolesnika između četiri kategorije težine KSU-e

**Procjena odnosa kategorija dobre i loše kvalitete spavanja (PSQI) s ostalim parametrima je pokazala da** nije bilo znatnih razlika u trajanju, aktivnosti i kontroli KSU-e, vrijednostima melatonina, dermatološkoj kvaliteti života i dobi između skupina s dobrom i lošom kvalitetom spavanja.

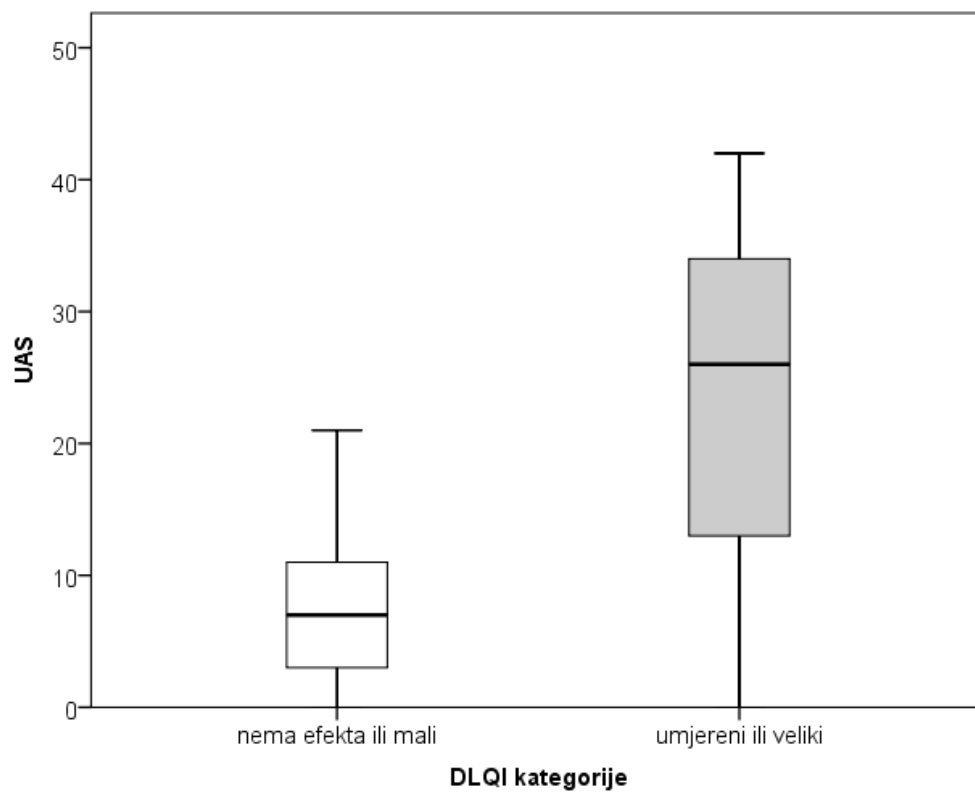
**Procjena odnosa kategorija dermatološke kvalitete života (DLQI) s ostalim parametrima je pokazala da** u 6/38 bolesnika s KSU-om nije bilo utjecaja bolesti na kvalitetu života, u 10/38 bolesnika je bio slab utjecaj, u 14/38 umjereni, dok je u 5/38 bolesnika bio vrlo snažan i u 3/38 bolesnika s KSU-om izuzetno snažan utjecaj bolesti (sl. 34). Dob, trajanje bolesti i salivarni melatonin nisu se znatno razlikovali između četiri kategorije dermatološke kvalitete života (zbog malog broja ispitanika s kategorijom izuzetno veliki, spojene su zadnje dvije kategorije). Razlike između skupina bolesnika s različitom kvalitetom života bile su značajne u UAS7-u ( $p < 0,001$ ;  $\eta^2 = 0,603$ ), broju urtika ( $p < 0,001$ ;  $\eta^2 = 0,485$ ), intenzitetu svrbeža ( $p < 0,001$ ;  $\eta^2 = 0,562$ ), UCT-u ( $p = 0,018$ ;  $\eta^2 = 0,271$ ) i PSQI-u ( $p = 0,001$ ;  $\eta^2 = 0,431$ ). Pritom je značajniji utjecaj na kvalitetu života imao intenzitet svrbeža, nego broj urtika. Kada se dermatološka kvaliteta života kategorizira u dvije kategorije (nema utjecaja ili mali utjecaj/ umjereni ili veliki utjecaj KSU-e na kvalitetu života), oni s umjerenim ili velikim utjecajem KSU-e na kvalitetu života imaju jači intenzitet svrbeža ( $p = 0,003$ ;  $r = -0,485$ ), veći broj urtika ( $p = 0,003$ ;  $r = -0,480$ ) i viši UAS7 ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,573$ ), a manji UCT ( $p = 0,026$ ;  $r = -0,361$ ). Navedeno je prikazano na slikama 35-39.



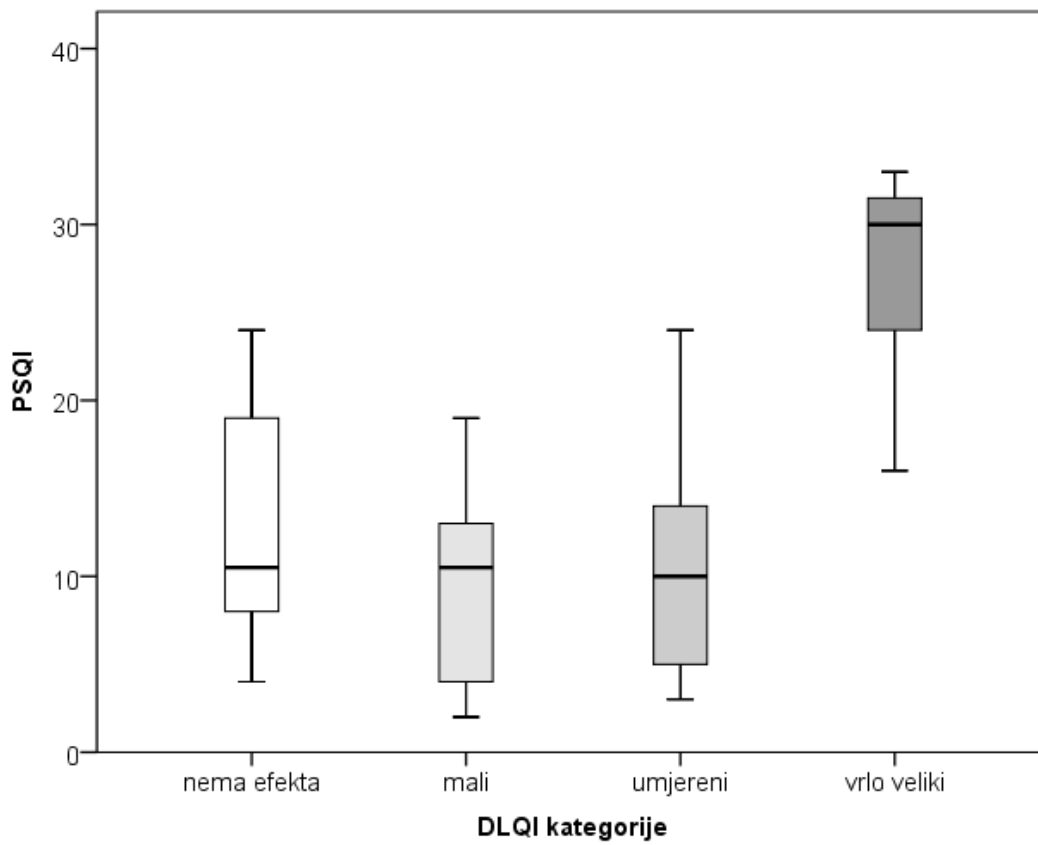
Slika 34. Zastupljenost pojedinih kategorija kvalitete života (DLQI-a) u bolesnika s KSU-om



Slika 35. Usporedba težine kliničke slike (UAS7) između pojedinih DLQI kategorija

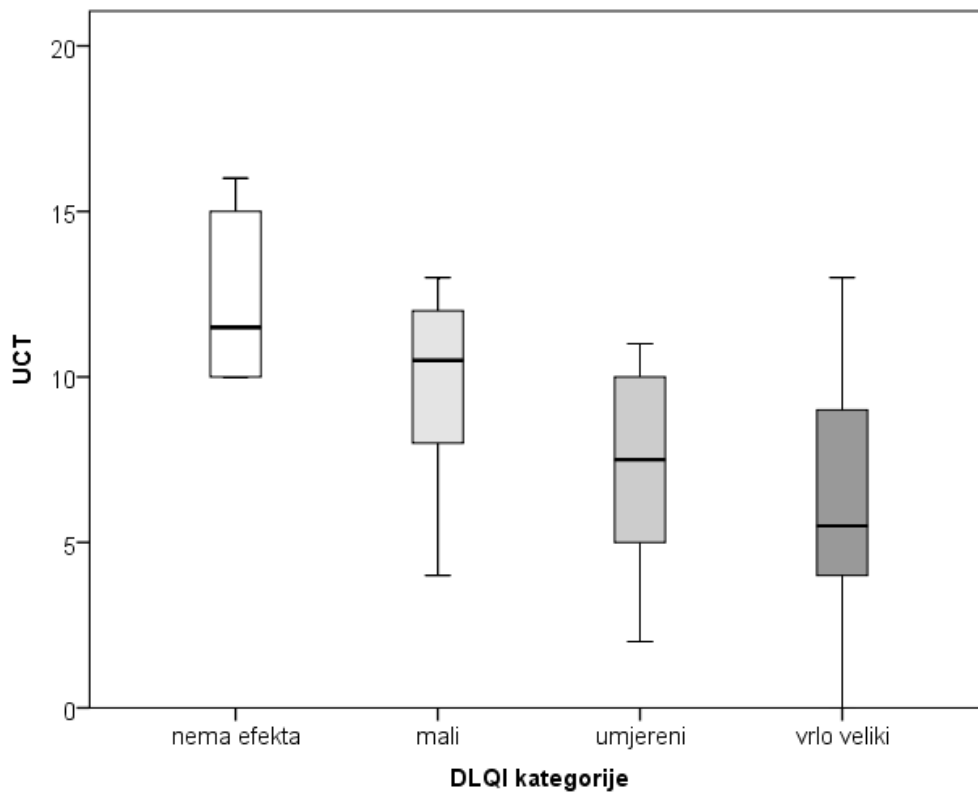


Slika 36. Usporedba težine kliničke slike KSU-e (UAS7) između dvije DLQI kategorije

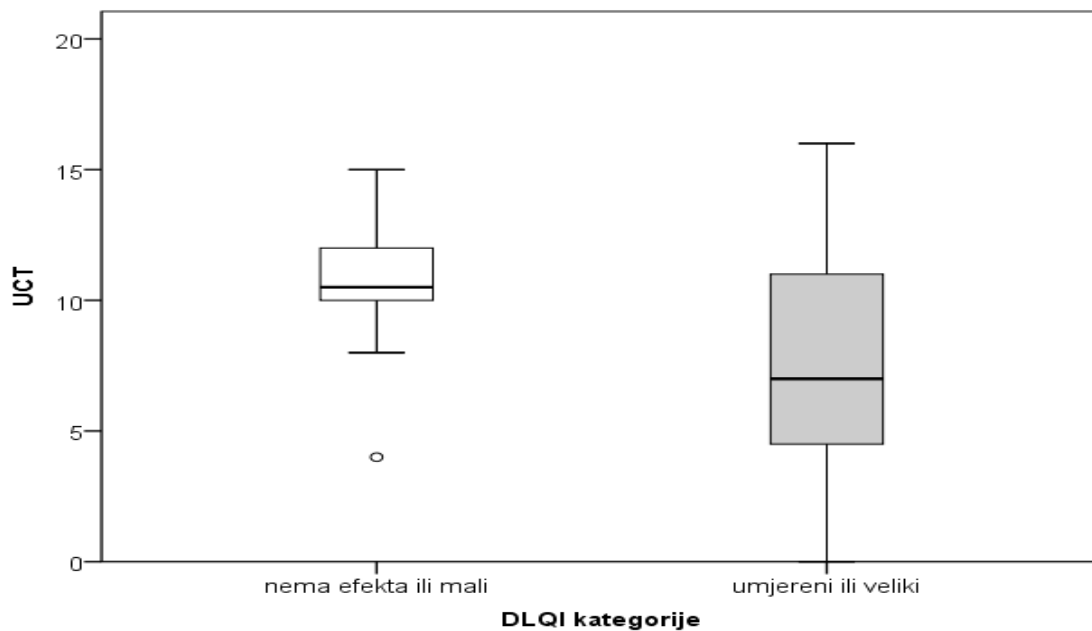


Slika 37. Usporedba intenziteta kvalitete sna (PSQI-a) između četiri DLQI kategorija





Slika 38. Usporedba razine kontrole bolesti (UCT-a) između pojedinih DLQI kategorija



Slika 39. Usporedba razine kontrole bolesti (UCT) primjenom propisane terapije između dvije DLQI kategorije

Za analizu prediktora DLQI-a na uzorku u bolesnika s KSU-om uzeti su UCT, PSQI i UAS7 koji su u univarijantnim analizama (Spearmanove korelacije) bili znatno povezani s DLQI, s dobi i spolom. Uz kontrolu dobi, spola, kontrole bolesti i kvalitete sna, samo je težina kliničke slike KSU-e bila značajan prediktor dermatološke kvalitete života koji samostalno objašnjava 26% varijance. Težina kliničke slike KSU-e je korelirala s UCT-om i PSQI-om pa s njima dijeli ostatak objašnjenja varijabiliteta kvalitete života. Cijeli model objašnjava 67% varijance (tbl. 13).

Tablica 13. Multipla linearna regresija za prediktore dermatološke kvalitete života u bolesnika s KSU-om (N=38)

	Nestandardizirani		Standardizirani		Korelacije		
	koeficijenti		koeficijenti		Nultog	Parcijalna	Semipar
	B	SE	Beta	p	reda	na	cijalna
konstanta	0,7	3,2					
Dob	0,0	0,1	0,1	0,433	0,318	0,139	0,075
Spol (0=M, 1=Ž)	-0,5	2,0	-0,0	0,796	-0,007	-0,046	-0,025
UCT	-0,2	0,2	-0,1	0,276	-0,473	-0,192	-0,105
PSQI	0,1	0,1	0,2	0,082	0,565	0,303	0,171
<b>UAS</b>	<b>0,3</b>	<b>0,1</b>	<b>0,6</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,805</b>	<b>0,690</b>	<b>0,512</b>

R=0,844; R<sup>2</sup>=0,718; Prilagođeni R<sup>2</sup>=0,667; p<0,001.

SE-standardna pogreška

Za analizu prediktora kontrole bolesti uz provođenje terapije uzeti su UCT, PSQI i DLQI koji su u univarijantnim analizama bili znatno povezani s UAS7, s dobi i spolom. Uz kontrolu dobi, spola i težine kliničke slike bolesti i kvalitete sna, samo je kvaliteta života bila značajan prediktor kontrole KSU-e koji samostalno objašnjava 31% varijance. Kontrola bolesti je korelirala s UCT-om i PSQI-om pa s njima dijeli ostatak objašnjenja varijabiliteta kvalitete života. Cijeli model objašnjava 61% varijance (tbl. 14)

Tablica 14. Multipla linearna regresija za prediktore dermatološke kvalitete života u osoba s kroničnom spontanom urtikarijom (N=38)

	Nestandardizirani		Standardizirani		Korelacije		
	koeficijenti		koeficijenti		Nultog reda	Parcijal na	Semipar cijalna
	B	SE	Beta	p			
Konstanta	5,9	7,5					
Dob	-0,0	0,1	-0,0	0,889	0,230	-0,025	-0,014
Spol (0=M, 1=Ž)	4,0	4,6	0,1	0,393	0,071	0,151	0,089
UCT	-0,40	0,4	-0,1	0,391	-0,446	-0,152	-0,089
PSQI	0,0	0,2	0,0	0,840	0,472	0,036	0,021
<b>DLQI</b>	1,6	0,3	0,8	<0,001	0,805	0,690	0,554

$R=0,814$ ;  $R^2=0,663$ ; Prilagođeni  $R^2=0,610$ ;  $p<0,001$ .

SE-standardna pogreška

Za analizu prediktora kvalitete sna bolesnika s KSU-om uzeti su DLQI, UAS7, dob i spol. Model multiple regresije nije utvrdio statistički značajne prediktore. Također, multipla regresija nije dokazala značajne prediktore UCT-a.

**Zaključci prema postavljenim ciljevima:**

- 1) u bolesnika s KSU-om srednja vrijednost salivarnoga melatonina znatno je niža, nego u zdravih ispitanika (0,2 naspram 15,85 pg/mL)
- 2) Težina i aktivnost KSU-e linearno su proporcionalno povezani s kvalitetom života i kvalitetom sna u tih bolesnika, uz jaku korelaciju s kvalitetom života i slabu korelaciju s kvalitetom sna. Porastom težine i aktivnosti KSU-u, raste narušenost kvalitete života i kvalitete sna.
- 3) U bolesnika s KSU-om koncentracija salivarnoga melatonina nije povezana s kvalitetom sna i kvalitetom života. Međutim, na ukupnom uzorku melatonin je linearno obrnuto proporcionalno povezan s njihovom kvalitetom života i kvalitetom sna (uz umjerenu korelaciju) pa se u bolesnika s KSU-om, melatonin smanjuje s porastom narušenosti dermatološke kvalitete života i porastom narušenosti kvalitete spavanja.

## 5. RASPRAVA

Osim pojavom urtika i/ili angioedema tijekom vremenskog razdoblja duljeg od šest tjedana, KSU je karakterizirana i intenzivnim osjećajem svrbeža i lošom kvalitetom života, ali i povećanom sklonošću za pojavu depresije, anksioznosti i poremećaja spavanja. U pristupu bolesniku s KSU-om, procjena aktivnosti i tijeka bolesti te odgovora na primijenjenu terapiju temelji se na bolesnikovim anamnestičkim podacima i medicinskoj dokumentaciji te standardiziranim upitnicima o aktivnosti bolesti, kontroli bolesti, kvaliteti života i kvaliteti spavanja kojima se objektivizira aktivnost bolesti i učinak primijenjene terapije (3). Među važnim čimbenicima koji su uočeni u bolesnika s KSU-om su psihički stres i poremećaji spavanja. Prema istraživanju Schuta i suradnika, bolesnici s KSU-om imaju značajno veću aktivnost urtikarije i snažnije percipiraju doživljeni stres nego bolesnici s kroničnom induciranom urtikarijom (48). U bolesnika s KSU-om uočena je povezanost intenziteta svrbeža s emocionalnom stresom (27, 28, 29, 30, 31). Naime, dokazano je da stres aktivira autonomni živčani sustav, snižava prag za svrbež, zbog čega intenzitet svrbeža može biti uvjetovan, osim samom težinom bolesti, i psihološkim čimbenicima poput stresa (28, 29). Iako je u praksi teško odrediti i mjeriti razinu psihičkog stresa u pojedinim osoba, ističe se nekoliko njegovih pokazatelja u krvi i slini. Potencijalni biomarkeri stresa u slini su: kortizol, imunoglobulin A (IgA), lizozim, melatonin,  $\alpha$ -amilaza (sAA), kromogranin A (CgA) i faktor rasta fibroblasta 2 (FGF-2) (121). Pregledom literature uočava se da su jedini salivarni biomarkeri stresa koji su određivani u bolesnika s KSU-om salivarni kortizon i kortizol (115). Lee i suradnici također su istraživali odnos između kontrole urtikarije (pomoću UCT-a) i vrijednosti salivarnog kortizona i kortizola te su pokazali da su njihove vrijednosti više u onih bolesnika koji imaju bolju kontrolu bolesti (116). Kako dosad kod KSU-e nije istraživano melatonin, ovo istraživanje predstavlja prvo istraživanje u kojem su se određivale koncentracije melatonina u bolesnika s KSU-om. Melatonin je značajan pokazatelj poremećaja spavanja (hormon koji sintetizira i luči epifiza zajedno s drugim ekstrapinealnim izvorima: stanicama imunskog sustava, mozga, sluznicom probavnog sustava, retinom i kožom). Melatonin ima ključnu ulogu u različitim fiziološkim aktivnostima (regulaciji cirkadijalnih ritmova, imunskim odgovorima, oksidativnim procesima, apoptozi ili mitohondrijskoj homeostazi), koji se najčešće mijenjaju tijekom upalnih procesa (122). Eksperimentalna istraživanja s terapijskom primjenom melatonina pokazuju njegovu uspješnu primjenu u liječenju poremećaja spavanja te upalnih neuroloških bolesti i bolesti probavnog sustava (Alzheimerove bolesti, amiotrofične lateralne skleroze, multiple skleroze i Huntigtonove

bolesti te ulceroznog kolitisa). Pritom su kod Parkinsonove i Chronove bolesti dokazani kontradiktorni učinci primjene melatonina (122). U kliničkoj primjeni, melatonin se preporučuje bolesnicima s poremećajima spavanja i psihijatrijskim poremećajima kao moguća farmakoterapijska opcija (68,69). Prema nedavnom članku u kojem se navode preporuke međunarodne ekspertne skupine (*International Expert Opinions and Recommendations*), nesanica se može liječiti sustavnom primjenom melatonina u dozi od 2 do 10 mg melatonina (koji se sporo oslobađa, jedan do dva sata prije spavanja) kako bi se oponašao fiziološki ciklus lučenja melatonina (69). Pozitivne rezultate primjene sustavnog melatonina bilježe brojne studije (69, 70, 123, 124, 125, 126). Gledajući njegov učinak u dermatološkim bolestima, melatonin djeluje na način da se može suprotstaviti okolišnim i endogenim stresorima, regulira imunski odgovor, smanjuje oksidativni stres i pozitivno djeluje na cjelokupni integritet kože (126).

### **1) Vrijednosti melatonina u slini bolesnika s KSU-om i njihova usporedba s vrijednostima zdravih ispitanika (kontrolna skupina)**

Prema našim rezultatima koji su prvi rezultati o vrijednostima melatonina u bolesnika s KSU-om, srednja vrijednost salivarnog melatonina je u KSU-i znatno niža nego u zdravih osoba. Promatrajući odnos vrijednosti melatonina i kvalitete života u bolesnika s KSU-om, uočava se da se porastom narušenosti dermatološke kvalitete života i porastom narušenosti kvalitete spavanja, melatonin snižava (tj. bolja kvaliteta života i bolji san povezani su s višim melatoninom). Ipak, u skupini oboljelih od KSU-e koncentracija salivarnog melatonina nije korelirala s dobi, dermatološkom kvalitetom života, kvalitetom spavanja, trajanjem bolesti, težinom bolesti, urtikama, svrbežom niti kontrolom bolesti. Naši rezultati pokazali su da bolesnici s KSU većinom imaju snižene vrijednosti salivarnog melatonina, što je u skladu s njihovom poremećenom kvalitetom spavanja, koja je najčešće povezana sa svrbežom, kao najčešćim subjektivnim simptomom urtikarije (127). Svrbež je čest u dermatoloških bolestima pa se tako kronični noćni svrbež javlja i u bolesnika s atopijskim dermatitisom, psorijazom, kroničnim lichenom simplexom, kao i u bolesnika s prurigom, zbog čega je u tih bolesnika često poremećen san. Prema rezultatima istraživanja, u liječenju noćnog svrbeža (za smanjenje subjektivnog osjećaja svrbeža i poboljšanje kvalitete sna) najčešće se primjenjuju lokalni kortikosteroidi, peroralni melatonin i klonidin (128).

Proučavajući upalne dermatoze u odnosu na poremećen san i melatonin, jedini značajni literaturni podaci o vrijednostima melatonina kod dermatoloških bolesti sličnih KSU-i, praćenih intenzivnim svrbežom te poremećenim snom i kvalitetom života objavljeni su za atopijski dermatitis. Atopijski dermatitis je najčešća kronična bolest karakterizirana intenzivnim osjećajem svrbeža i poremećenom kvalitetom spavanja. Istraživanja su pokazala da su u bolesnika s atopijskim dermatitisom snižene vrijednosti melatonina, a ujedno su provedene i eksperimentalne studije koje su koristile peroralnu nadomjesnu terapiju melatoninom (129, 130). Prema rezultatima navedenih istraživanja, niže koncentracije melatonina koreliraju s težom kliničkom slikom atopijskog dermatitisa i nadoknada melatonina poboljšava kvalitetu sna (kod njegove primjene u odgovarajućoj dozi, a više koncentracije melatonina ublažavaju težinu kliničke slike atopijskog dermatitisa) (129, 130). Dok su rezultati istraživanja o vrijednostima melatonina kod atopijskog dermatitisa pokazali obrnutu korelaciju između vrijednosti melatonina i težine kliničke slike, naši rezultati u bolesnika s KSU-u ipak nisu pokazali korelaciju melatonina s težinom kliničke slike KSU-e.

Od ostalih dermatoloških bolesti, melatonin u serumu je istraživao u bolesnika s rozacejom u perimenopauzi (98). Prema rezultatima istraživanja, snižena koncentracija melatonina uočena je u svih bolesnika s rozacejom, a stupanj sniženja koncentracije je izravno korelirao s težinom perimenopausalnih simptoma. Statističkom obradom dobivenih podataka utvrđena je korelacija između težine kliničke slike rozaceje i koncentracije melatonina u bolesnika, što nije uočeno u našem istraživanju u bolesnika s KSU-om (98). Prema rezultatima drugih istraživanja, snižene vrijednosti melatonina utvrđene su i u bolesnika sa psorijazom i u bolesnika s vitiligom koji su doživjeli stresni događaj (prema anamnestičkim podacima) (99, 100). Prema istraživanju, u 16 bolesnika s vitiligom, određivanjem razine melatonina u krvnoj plazmi ELISA metodom, u svih je bolesnika s nesegmentalnim oblikom vitiliga utvrđen snižen serumski melatonin, kao i u dvoje bolesnika sa segmentalnim. Pritom je samo u skupini bolesnika s nesegmentalnim oblikom vitiliga dokazana izravna korelacija između plazmatskoga melatonina i trajanja bolesti (100). Naši rezultati nisu pokazali korelaciju razine salivarnoga melatonina i trajanja KSU-e, ali nadamo se da će buduće studije dati više podataka o tome.

Proučavajući literaturne podatke o salivarnom melatoninu, nailazi se i na istraživanje o vrijednostima salivarnog melatonina u bolesnika s planocelularnim karcinomom usne šupljine.

Prema rezultatima istraživanja, razine salivarnoga melatonina bile su značajno više u bolesnika s planocelularnim karcinom usne šupljine (u onih sa stimuliranom i nestimuliranom slinom), nego u ispitanika kontrolne skupine (110). Osim istraživanja kod oralnog karcinoma, vrijednosti melatonina su određivane i kod parodontitisa (131). Tako je u desetak studija utvrđen snižen melatonin kod parodontitisa, dok je u tri studije uočeno početno sniženje razine melatonina, nakon kojeg je slijedilo povišenje njegove razine s pogoršanjem parodontitisa, a u samo jednoj studiji je uočeno povišenje razine melatonina pri prijelazu iz zdravog stanja u parodontitis. Meta-analiza navedenih studija je u bolesnika s kroničnim parodontitisom utvrdila značajno sniženje razine melatonina u slini u usporedbi sa zdravim kontrolama ( $p < 0,0001$ ). (131). Od ostalih srodnih istraživanja, može se spomenuti istraživanje Lee i suradnika o vrijednostima salivarnog kortizola i kortizona u bolesnika, provedeno na 96 ispitanika (116). Kontroliranost KSU-e određivana je pomoću UCT-a, prema kojem su bolesnici svrstani u tri skupine (dobra kontrola bolesti, loša kontrola bolesti i nekontrolirana bolest), dok su kortizol i kortizon u slini mjereni kromatografijom i masenom spektrometrijom. Rezultati su pokazali snažnu korelaciju između UCT-a i težine KSU-e (izmjenom ocjenom aktivnosti urtikarije, pomoću UAS7). Također je uočena značajna povezanost razine kortizona u slini i UCT-a (116).

Navedeni rezultati dobiveni ispitivanjem sline bolesnika upućuju na korisnost sline kao dijagnostičkog sredstva koje pomaže u prikupljanju novih znanstvenih činjenica. U naših bolesnika s KSU-om, vrijednosti melatonina nisu bile značajno povezane s kontrolom bolesti, mjerenih UCT-om. Ipak, kontrola bolesti (UCT) linearno negativno slabo korelira s kvalitetom života ( $r = -0,454$ ;  $p = 0,004$ ), iako ne korelira s kvalitetom sna. Naši rezultati potvrđuju da se s porastom kontrole KSU-e, smanjuje narušenost kvalitete života. Važno je naglasiti da kontrola bolesti (UCT) korelira s aktivnošću bolesti (UAS7-om), intenzitetom svrbeža i brojem urtika, ali ne i s trajanjem bolesti i dobi. Naši rezultati potvrđuju da, što je veća aktivnost KSU-e, što je jači intenzitet svrbeža i veći broj urtika, također je lošija kontrola bolesti. S druge strane, trajanje urtikarije i dob pojave KSU-e u bolesnika ne utječu na kontrolu bolesti.

## **2) Povezanost težine bolesti i aktivnosti KSU-e s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika**

Kronične bolesti kože najčešće imaju složenu multifaktorijalnu patogenezu, koja obuhvaća utjecaj genetske predispozicije, čimbenike okoliša i hiperaktivnost imunskog sustava (132). Poznato je



da kronične dermatoze narušavaju kvalitetu života oboljelih osoba, utječući na više aspekata psihofizičkog funkcioniranja, među kojima je i spavanje. Spavanje je temeljni fiziološki aktivni proces na koji otpada trećina života svake osobe, a reguliraju ga dva procesa – homeostatski ciklus spavanja i cirkadijalni sustav (132).

U pravilnoj aktivnosti spavanja, koža također ima važnu ulogu djelovanjem na kontrolu termoregulacije, središnju tjelesnu temperaturu i na početak spavanja i buđenja. Poremećaji spavanja su vrlo česti u bolesnika s kroničnim bolestima kože, naročito u onih bolesti koje su praćene subjektivnim osjećajem svrbeža ili bolnosti. To su ponajprije atopijski dermatitis, psorijaza, KSU, prurigo nodularis, hidradenitis suppurativa, akne vulgaris, lihen planus, itd. (132). Navedene bolesti najčešće remete san i posljedično dovode do narušavanja općeg stanja bolesnika. Patofiziološki mehanizam koji stoji u podlozi noćnog svrbeža je vrlo složen i još uvijek nepotpuno razjašnjen. Podležeci mehanizmi noćnog svrbeža mogli bi uključivati promjenu funkcije epidermalne barijere (noću dolazi do povećanog transepidermalnog gubitka vode), usklađivanje termoregulacije (najviša temperatura organizma je u ranim večernjim satima, a minimalna u ranim jutarnjim satima), cirkadijalni ritam (os hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda regulira razine kortikosteroida u organizmu gdje je razina kortikosteroida minimalna tijekom večeri i noći, što se odražava u smanjenoj protuupalnoj reakciji), smanjenu proizvodnju melatonina (glavnog regulatornog hormona ciklusa spavanja i cirkadijalnog ritma) kao i poremećaj lučenja endogenih molekula uključenih u fiziološki cirkadijalni ritam (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, opioidi i opioidni receptori, faktor rasta neuralnog tkiva, interleukini i citokini: IL-2, IL-8, IL-31, IFN-gama) (132).

Osim navedenih kroničnih bolesti kože, subjektivni osjećaj svrbeža javlja se i u drugim kroničnim bolestima poput lihena simplex, buloznog pemfigoida, eritrodermije, parazitarne infekcije kože i ugriza kukaca. U slučaju pojave noćnog svrbeža, osim na bolesti kože, uvijek treba pomišljati i na sistavne bolesti praćene svrbežom (kronična bolest bubrega, bolest jetre, bolesti hematološkog sustava), uzimanje sredstava ovisnosti, razne neurološke, psihološke i psihijatrijske poremećaje, itd.

Zbog česte pojave urtika i svrbeža, dugotrajnosti bolesti, učestalosti recidiva, nedovoljno poznate etiopatogeneze te rezistentnosti na postojeću dostupnu terapiju, KSU-a značajno utječe na kvalitetu života oboljelih. Bolest remeti njihovu svakodnevicu i spavanje te obično utječe na psihološko stanje bolesnika pa ne iznenađuje spoznaja da je urtikarija jedna od dermatoloških bolesti s najvišom prevalencijom praćućih psihijatrijskih poremećaja (45). Za procjenu i

kvantifikaciju zdravstvene kvalitete života oboljelih od KSU-e može se koristiti standardizirani upitnik o kvaliteti života koji se koristi kod svih dermatoloških bolesti [Dermatology quality of life questionnaire (DLQI)] ili upitnik prilagođen kroničnoj urtikariji [Chronic urticaria – quality of life (CU-QoL)] (46). Ovi upitnici obuhvaćaju utjecaj pojave urtika i angioedema te svrbeža na svakodnevni život bolesnika: na izvršavanje radnih obaveza, bavljenje hobijima i ostalim slobodnim aktivnostima te na odnose s drugim osobama i kvalitetu spavanja (3). Navedeni upitnik DLQI koristili smo i u našem istraživanju. Ispitivanje obilježja kvalitete života i kvalitete sna naših bolesnika s KSU-om je potvrdilo da bolesnici s KSU-om imaju lošiju kvalitetu života i lošiji san. Pritom je rizik za pojavu loše kvalitete sna bio 3,2 puta veći u osoba s KSU-om, nego u zdravih osoba. Također, kvaliteta sna značajno korelira s intenzitetom svrbeža ( $r = 0,364$ ), ali ne i sa urtikama. Porastom težine KSU-e (UAS7), raste narušenost kvalitete života i sna bolesnika. M Mutiplom linearnom regresijom uočeno je da je samo kvaliteta sna značajni prediktor salivarnog melatonina. Trajanje bolesti nije linearno koreliralo s kvalitetom života, spavanjem niti koncentracijom melatonina, što pokazuje da trajanje bolesti nije ključno za bolesnike s KSU-om. Kvaliteta života bolesnika s KSU-om značajnije korelira s intenzitetom svrbeža ( $r = 0,740$ ), nego s urtikama ( $r = 0,646$ ), što upućuje da je svrbež čimbenik koji više remeti kvalitetu života, nego urtike. Bolesnici s KSU-om u kojih se, uz urtike, pojavljuje prateći angiodem imaju narušeniju kvalitetu života ( $p = 0,004$ ;  $r = -0,471$ ), manju kontrolu bolesti, ( $p = 0,017$ ;  $r = -0,387$ ), teži oblik bolesti ( $p = 0,014$ ;  $r = -0,397$ ), veći broj urtika ( $p = 0,042$ ;  $r = -0,331$ ) i jači intenzitet svrbeža ( $p = 0,005$ ;  $r = -0,459$ ), nego bolesnici u kojih se urtike pojavljuju samostalno (utjecaj svrbeža je snažniji od utjecaja urtika), što potvrđuje izraženiji negativan utjecaj bolesti, ukoliko su urtike praćene angioedemom. U bolesnika s KSU-om, nisu uočene značajne razlike u dobi, kvaliteti spavanja i koncentraciji salivarnoga melatonina u odnosu na zdrave ispitanike.

Budući da su naši rezultati pokazali da su bolesnici s dobro kontroliranom KSU-om bili stariji od onih s lošom kontrolom bolesti, to upućuje na činjenicu da starije osobe više vode računa o liječenju bolesti i izbjegavanju provocirajućih čimbenika (ukoliko oni postoje). Naši rezultati ukazuju da je dominirao umjereni utjecaj KSU-e na kvalitetu života (u 6/38 bolesnika s KSU-om nije bilo negativnog utjecaja bolesti na kvalitetu života, u 10/38 je bio mali utjecaj, u 14/38 umjereni, u 5/38 vrlo veliki, a u samo 3/38 bolesnika izuzetno veliki utjecaj KSU-e na kvalitetu života), što odgovara literaturnim podacima. Jedini značajni prediktor kvalitete života bolesnika s KSU-om bila je težina kliničke slike urtikarije, što upućuje da je težina kliničke slike ključni

čimbenik koji određuje narušenost kvalitete živote bolesnika s KSU-om. Značajni prediktor kontrole KSU-e je bila kvaliteta života, što potvrđuje ukoliko je bolja kontrola urtikarije, bolja je i kvaliteta života bolesnika s KSU-om.

Među istraživanjima utjecaja KSU-e na kvalitetu života ističe se nekoliko njih. Opsežno međunarodno istraživanje AWARE 2020 pratilo je 4838 bolesnika s kroničnom urtikarijom kroz dvije godine te su identificirani glavni razlozi snažnog utjecaja KSU-e na kvalitetu života (47). Uočeno je da su na kvalitetu života bolesnika s KSU-om ponajprije utjecali: učestala pojava urtika i angioedema (kao vidljivi znakovi na koži bolesnika), intenzivni osjećaj svrbeža, poremećen san, pojava umora i manjka koncentracije. To su ujedno i razlozi koji dovode do pojave određenih psiholoških smetnji, u vidu razdražljivosti, nervoze, anksioznosti ili pojačane percepcije stresa. Tome pridonose i glavna obilježja KSU-e poput dugotrajnosti bolesti kod koje je nemoguće identificirati uzrok i/ili okidač za pojavu promjena kože te nezadovoljavajući odgovor na terapiju (47). Valja uzeti u obzir i činjenicu da je utjecaj bolesti na kvalitetu života bolesnika vrlo subjektivan doživljaj, tako npr. bolesnici s blagom kliničkom slikom mogu doživljavati značajno narušenu kvalitetu života, dok oni s težom kliničkom slikom ne moraju nužno imati značajno narušenu kvalitetu života (47).

Istraživanje Verhoevena i suradnika također je pokazalo da je svrbež jedan od najznačajnijih čimbenika koji negativno utječe na kvalitetu spavanja i kvalitetu života bolesnika s KSU-om i remeti njihove svakodnevne aktivnosti (31). Osjećaj svrbeža smatra se teže podnošljivim za bolesnika od postojanja urtika, što je pokazalo i naše istraživanje, po kojem svrbež značajno više od urtika, utječe na kvalitetu života. Također, pokazalo se da svrbež značajno utječe na kvalitetu sna bolesnika. Međutim, vrijednosti salivarnoga melatonina u bolesnika s KSU-om u našem istraživanju ne koreliraju ni sa svrbežom ni s urtikama. Stoga se može pretpostaviti da intenzitet svrbeža i pojava urtika ne utječu na vrijednosti melatonina, iako je za stav o tome potreban veći broj ispitanika.

Za podatke o odnosu povezanosti težine KSU-e i kvalitete života bolesnika osobito su značajni rezultati spomenute AWARE studije, u kojoj je praćena primjena terapije KU-e, pojava angioedema, zabilježen UAS7 i DLQI tijekom devet dogovorenih pregleda (47). Pritom je bilo uključeno 4838 bolesnika, od kojih 9.9% bolesnika nije koristilo terapiju, 20.4% bolesnika je koristilo prvu liniju terapije nesedirajućim H1-antihistaminicima, a najveći broj bolesnika (25.5%) bio je na povišenoj dozi nesedirajućim H1-antihistaminicima (do drugog kontrolnog pregleda), a

omalizumab bio je najčešći terapijski izbor u bolesnika. Tijekom praćenja uočeno je smanjenje DLQI-a i težine bolesti mjerene UAS7-om. U 45.4% bolesnika s KSU-om zapažena je pojava angioedema (47). U našem istraživanju, koje je bilo presječnog tipa, u kliničkoj slici bolesnika s KSU-om 47% bolesnika imalo je samo urtike, dok je 53% bolesnika imalo urtike praćene angioedemom. Uspoređujući bolesnike s kombinacijom urtika i angioedema i bolesnike s izoliranom pojavom urtika, bolesnici s kombinacijom urtika i angioedema imali su značajnije narušenu kvalitetu života ( $p = 0,004$ ;  $r = -0,471$ ), niži UCT ( $p = 0,017$ ;  $r = -0,387$ ), težu bolest (viši UAS7) ( $p = 0,014$ ;  $r = -0,397$ ), veći broj urtika ( $p = 0,042$ ;  $r = -0,331$ ) i jači intenzitet svrbeža ( $p = 0,005$ ;  $r = -0,459$ ). To ukazuje da je prateći angioedem važan čimbenik koji doprinosi narušenosti kvalitete života, kontrole bolesti i intenzitetu svrbeža. Gledajući težinu bolesti, u naših je bolesnika dominirao teški oblik KSU-e (vrlo blagi oblik bolesti imalo je 9, blagi 11, umjereni 6, a teški 12 od ukupnih 38 ispitanika). Bolesnici s blažim oblikom bolesti (kategorije vrlo blagi i blagi) u odnosu na bolesnike s umjerenim ili teškim oblikom bolesti imaju narušeniju kvalitetu života (niži DLQI) ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,636$ ), manji broj urtika ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,806$ ) i manji intenzitet svrbeža ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,756$ ), ali bolju kontrolu KSU-e ( $p = 0,028$ ;  $r = -0,356$ ), što je u skladu s očekivanjima.

Bolesnici s različitom težinom KSU-e nisu se razlikovali u trajanju bolesti, melatoninu niti kvaliteti spavanja, dok je dob bila na razini granične značajnosti u osoba s umjerenom ili teškom KSU-om. Uočena je i povezanost narušene kvalitete života i psihičkih ili psihijatrijskih poremećaja u bolesnika s KSU-om. Tako su Goncalo i suradnici, 2020.g. pokazali da KSU ima snažan utjecaj na kvalitetu života bolesnika, osobito u bolesnika u kojih su urtike praćene angioedemom u kojih se često javljaju prateći psihološki ili psihijatrijski poremećaji. Nastanak anksioznog poremećaja ili depresivne epizode, koje se pojavljuju u 30% bolesnika s KSU-om, dodatno pridonose narušenoj kvaliteti života tih bolesnika. Intenzivan osjećaj svrbeža i nepredvidljiva pojava angioedema odgovorni su za poremećaje spavanja, seksualnu disfunkciju, ograničenja u svakodnevnom životu, radu i sportskim aktivnostima; ometanju života unutar obitelji i društva te za učinak bolesnika u školi i na poslu (45, 133).

U bolesnika s KSU-om se, kao pouzdani objektivni biomarkeri koji koreliraju s aktivnosti bolesti, težinom bolesti, njenim trajanjem i odgovorom na primijenjenu terapiju (s dokazanom značajnom

kliničkom korelacijom), navode serumski ukupni IgE i C-reaktivni protein, autologni serumski kožni test i vrijednost antiTPO protutijela (134).

Prema najnovijim istraživanjima, lošija kvaliteta života ne ovisi o dobi, spolu i trajanju bolesti (133), što je i u skladu s našim rezultatima.

Značajni su rezultati istraživanja odnosa težine kliničke slike (UAS7) i kvalitete života koje je proveo Maurer sa suradnicima analizom 673 odrasla bolesnika s KSU-om (135). Pritom je 50% bolesnika s KSU-om imalo umjerenu do tešku kliničku sliku bolesti (prema UAS7-u), dok je srednja DLQI vrijednost iznosila 9.1. Pojava angioedema uočena je u prethodnih 12 mjeseci u 66% bolesnika i njegova pojava je imala značajan učinak na kvalitetu života, što odgovara i našim rezultatima koji govore o utjecaju pratećeg angioedema na kvalitetu života bolesnika s KSU-om (135).

Rezultati istraživanja donekle se razlikuju među autorima i studijama. Tako su u istraživanju o kvaliteti života bolesnika s KSU-om provedenom u Nepal u 2020.g., dobiveni rezultati drugačiji u odnosu na naše rezultate (136). U tom istraživanju, u bolesnika s KSU-om odnos oboljelih muškaraca naspram žena (1:1.9) mnogo je manji u odnosu na naše istraživanje (1:19). Također, prema njihovim rezultatima, muškarci oboljeli od KSU-e imali su značajno lošiju kvalitetu života u odnosu na žene, dok u našem istraživanju kvaliteta života nije korelirala sa spolom (136).

Pokazalo se da je kod procjene kvalitete života bolesnika s KSU-om, važno uzeti u obzir i čimbenik psihičkog stresa. Prema istraživanju Ograczyk-Piotrowske i suradnika, u bolesnika s KSU-om uočena je veća razina stresa koja se najviše manifestirala intenzitetom svrbeža i osjećajem neugodnosti i srama (u DLQI upitniku) (28). O odnosu kvalitete života i težine KSU-e, govori i jedno japansko istraživanje provedeno 2019. g. po kojem vrijednosti UAS7 pokazuju visoku pozitivnu korelaciju s DLQI rezultatima, dok s druge strane, rezultati UCT-a pokazuju visoku obrnutu korelaciju s DLQI rezultatima (137). Zapažena je i značajna korelacija između rezultata UAS7-a i UCT rezultata. Nakon provedenog liječenja KSU-e, uočeno je sniženje vrijednosti UAS7-a, povišenje vrijednosti UCT-a i poboljšanje kvalitete života pa je liječenje ublažilo težinu KSU-e, poboljšalo kontrolu KSU-e i poboljšalo kvalitetu života (137). Također, u tom je istraživanju preporučena primjena i UCT-a za procjenu kvalitete života bolesnika s KSU-om zbog njegove praktičnosti u svakodnevnoj kliničkoj praksi i dobre osjetljivosti na provedeno liječenje. Rezultati te studije su vrlo slični rezultatima koje smo mi dobili u ovom istraživanju, prvenstveno gledajući korelaciju UAS-a, UCT-a i DLQI vrijednosti, koju smo i mi uočili (137). U istraživanju

provedenom u Turskoj, 2019. g., koje je pokazalo vrijednost primjene UCT-a za KSU-u, uočeno je da je s duljim trajanjem bolesti, kontrola bolesti bila lošija (138). U našem istraživanju to nismo uočili. Prema rezultatima tog istraživanja, rezultati su pokazali da kontrola bolesti (UCT) ne korelira s trajanjem KSU-e i dobi, već linearno negativno slabo korelira s kvalitetom života. Ti rezultati upućuju da se s porastom kontrole bolesti, smanjuje narušenost kvalitete života. Također, UCT još obrnuto korelira s UAS7-om, svrbežom i urtikama, što upućuje da se s porastom kontrole bolesti, smanjuje aktivnost bolesti, smanjuje intenzitet svrbeža i smanjuje broj urtika (138).

Nedavno (2022. g.) je objavljeno istraživanje u kojem je Ates sa suradnicima proučavao kvalitetu života, poremećaje spavanja i kvalitetu sna u 21 bolesnika s KSU-om i u 19 zdravih bolesnika (139). Kao objektivizirajuće alate koristio je *CU-Q2 oL*, *Epworth Sleepiness Scale* (ESS), *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI) i polisomnografiju. Prema rezultatima, bolesnici s KSU-om imaju viši ESS rezultat pa su skloniji spavanju u svakodnevnom životu, što upućuje na „dnevnu pospanost“ (139). Također su imali povišeni indeks apneje-hipopneje (AHI), korišten za označavanje težine apneje u snu (predstavljen je brojem događaja apneje i hipopneje po satu spavanja). AHI indeks je iznosio više od pet, što označava blaži poremećaj spavanja. U skupini bolesnika s KSU-om, kvaliteta života je pozitivno korelirala s latencijom spavanja i rezultatom PSQI, dok je negativno korelirala s trajanjem urtikarije, indeksom apneje-hipopneje, trajanjem apneje, ukupnim brojem respiratornih događaja i brojem apneja (139).

Gledajući međuodnos težine i aktivnosti KSU-e, kvalitete života i kvalitete sna, prema našim rezultatima istraživanja, težina i aktivnost bolesti (UAS7) snažno linearno pozitivno koreliraju s kvalitetom života, a slabo linearno pozitivno s kvalitetom sna ( $r = 0,762$  i  $0,351$ ;  $p \leq 0,031$ ). To ukazuje da porastom težine KSU-e raste narušenost kvalitete života i sna, što je bilo i očekivano, čime je potvrđena naša hipoteza. Gledajući kontrolu bolesti, kvalitetu života i kvalitetu sna u bolesnika s KSU-om, kontrola bolesti (UCT) linearno negativno slabo korelira s kvalitetom života ( $r = -0,454$ ;  $p = 0,004$ ), ali ne i s kvalitetom sna. Time možemo pretpostaviti da lošija kontrola bolesti pridonosi lošoj kvaliteti sna i razvoju poremećaja spavanja. Uz to, trajanje KSU-e nije linearno koreliralo s kvalitetom života, spavanjem niti koncentracijom salivarnoga melatonina, što upućuje da se bolesnici s različitim trajanjem bolesti ne razlikuju u kvaliteti života i poremećajima spavanja (140).

Proučavajući spoznaje o KSU-i u dječjoj dobi i njihovom spavanju, ističe se istraživanje provedeno u 83 djece grupirane u dvije skupine, s obzirom na pojavu glavobolje i prateću narušenost kvalitete

života (140). U djece s KSU-om i glavoboljom uočena je značajno lošija kvaliteta života u odnosu na one bez glavobolje, a najveće poteškoće su zapažene u domeni problema sa spavanjem i obavljanju svakodnevnih aktivnosti. Ipak u oboljele djece nije pronađena značajna povezanost između kontrole bolesti (UCT), težine bolesti (UAS7) i kvalitete života i jačine glavobolje, niti su se skupine s glavoboljom i bez nje razlikovale po trajanju urtikarije, UAS7-u i UCT-u (140).

Utjecaj liječenja KSU-e na poboljšanje kvalitete sna pokazalo je istraživanje Giménez-Arnau i suradnika čiji su rezultati (tri randomizirane, dvostruko slijepe, placebo kontrolirane studije) nakon terapije omalizumabom utvrdili značajno poboljšanje kvalitete sna (141).

Kao posljedica poremećene kvalitete sna, najevidentniji je osjećaj umora koji se javlja kao rezultat. Erol sa suradnicima je u 103 bolesnika s KSU-om istraživao osjećaj umora, mjerenjem *Fatigue Severity Scale* (FSS) i vizualno-analogne ljestvice umora (142). Iako nije dokazana značajna povezanost između aktivnosti KSU-e, rezultata kontrole bolesti i FSS-a, uočena je značajna korelacija između ukupnog FSS rezultata i kvalitete života bolesnika s KSU-om. Praćenjem čimbenika utjecaja na pojavu umora u bolesnika s KSU-om, regresijskim analizama utvrđeno je da su ženski spol i prisutnost poremećenog sna značajni prediktori umora u tih bolesnika (142).

### **3) Povezanost koncentracija melatonina u slini s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika s KSU**

Iako naši rezultati upućuju da koncentracija salivarnoga melatonina nije povezana s kvalitetom sna i kvalitetom života bolesnika s KSU-om, na našem ukupnom uzorku melatonin je linearno obrnuto proporcionalno povezan s kvalitetom života i sna (uz umjerenu korelaciju). To upućuje da se s porastom narušenosti dermatološke kvalitete života i porastom narušenosti kvalitete spavanja, melatonin snižava. Time je i hipoteza našeg istraživanja potvrđena. Bolesnici s KSU-om imaju niže razine melatonina u slini, lošiju kvalitetu sna i lošiju kvalitetu života, nego zdravi ispitanici. Potvrđen je i negativan utjecaj težine bolesti na san pa bolesnici s težom kliničkom slikom imaju lošiju kvalitetu sna i lošiju kvalitetu života. S druge strane, istražujući melatonin u bolesnika s karcinomom usne šupljine Salarić sa suradnicima dobio je suprotne rezultate (110). Prema određivanju melatonina i kvalitete spavanja upitnikom *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI) (kao i u našem istraživanju), vrijednosti melatonina u slini bolesnika s karcinomom bile su značajno više, a kvaliteta sna bila je značajno lošija. Ipak, u slini bolesnika s planocelularnim karcinomom

usne šupljine nije uočen očekivani odnos između kvalitete sna i razine melatonina (110). Prema rezultatima našeg istraživanja, težina i aktivnost KSU linearno su proporcionalno povezane s kvalitetom života i kvalitetom sna, s uočenom jakom korelacijom težine/aktivnosti KSU-e s kvalitetom života te slabom korelacijom težine/aktivnosti KSU-e s kvalitetom sna. To ukazuje da porastom težine i aktivnosti bolesti raste narušenost kvalitete života i sna, što potvrđuje povezanost KSU-e i poremećaja sna. Narušena kvaliteta spavanja obilježje je KSU-e, što potvrđuje nedavno objavljeno istraživanje Gimeneza-Arnau i suradnika po kojem je poremećen san dvostruko češći u bolesnika s KSU-om, nego u zdravih ispitanika (kontrolne skupine) (141). U istom je istraživanju utvrđeno i da je poremećen san povezan s težinom KSU-e (UAS7 rezultatima) i da se poremećaji spavanja prosječno javljaju tri noći tjedno i da nisu adekvatno riješeni u 48% bolesnika s KSU-om (141). U usporedbi KSU-e s drugim dermatološkim bolestima, poput psorijaze, značajno je više bolesnika s KSU-om prijavilo poteškoće sa spavanjem u posljednjih 12 mjeseci u usporedbi s bolesnicima sa psorijazom, bez obzira na težinu kliničke slike. Čimbenici koji vjerojatno doprinose poremećaju spavanja su: poteškoće u uspavljivanju i spavanju tijekom noći zbog intenzivnog osjećaja svrbeža, pojava angioedema koji je češće praćen osjećajem bolnosti, potom budnost koja je potaknuta oslobađanjem histamina iz mastocita i prisutnim komorbiditetima (npr. apneja u snu). U konačnici, nespavanje i gubitak sna negativno utječu na uspješnost na poslu i svakodnevno funkcioniranje, bitno utječu na društveni život bolesnika i povezani su s kraćim životnim vijekom (141).

Rezultati slični našima dobiveni su i u istraživanjima melatonina u serumu bolesnika s atopijskim dermatitisom (96). Pritom je u serumu bolesnika s vrlo teškim atopijskim dermatitisom koncentracija melatonina bila značajno niža od one kod teškog atopijskog dermatitisa, iako se koncentracija melatonina u bolesnika s atopijskim dermatitisom nije značajno razlikovala od one u kontrolnoj skupini. U bolesnika s atopijskim dermatitisom postojala je značajna negativna korelacija između koncentracije melatonina u skupini bolesnika i jačine svrbeža. Intenzitet poremećaja spavanja bio je značajno veći u bolesnika s vrlo teškim atopijskim dermatitisom, nego u onih s teškim oblikom. Uočena je i značajna negativna korelacija između koncentracije melatonina i poremećaja spavanja (96).

U sagledavanju ove teme, važno je istaknuti i zanimljivu povezanost kože i procesa spavanja. Tako neka obilježja kože pokazuju fiziološke varijacije u razdoblju spavanja, uključujući hidrataciju kože, protok krvi kroz nju i propusnost površinske barijere. Poremećaj sna također može utjecati



na starenje kože i kožni mikrobiom. Također, može utjecati na integritet organa i lokalne imunosne procese (143). Provedeno je i istraživanje bolesnika s atopijskim dermatitisom u kojem se melatonin određivao u urinu. Tako su u djece s atopijskim dermatitisom, Chang i suradnici određivali vrijednosti melatonina u urinu i kvalitetu sna (pomoću polisomnografije i aktinografije) te su oboljela djeca imala lošiju kvalitetu sna, dulju latenciju početka spavanja, veću fragmentaciju sna i manje sna bez brzih pokreta očiju (rezultati aktinografije dobro su korelirali s rezultatima polisomnografije) (144). Težina atopijskog dermatitisa bila je povezana s poremećajem spavanja, a teži oblik bolesti (SCORAD indeks-bodovni indeks težine atopijskog dermatitisa viši ili jednak od 48) predviđao je loše spavanje. Smanjeno noćno lučenje melatonina bilo je značajno povezano s poremećajem spavanja bolesnika s atopijskim dermatitisom. Prema tim rezultatima, loša kvaliteta spavanja uobičajena je za bolesnike s atopijskim dermatitisom i može se predvidjeti indeksom bodovanja atopijskog dermatitisa (144).

## 6. ZAKLJUČCI

Zbog značajno učestalije pojave poremećaja spavanja i pridruženih psihijatrijskih poremećaja u bolesnika s KSU-om, nužan je multidisciplinarni pristup u liječenju bolesnika s KSU-om koji uključuje suradnju dermatologa s kliničkim psiholozima i psihijatrima, kao i rad na osmišljavanju novih terapijskih mogućnosti u tom području.

U ovom istraživanju, potvrdili smo hipotezu da bolesnici s KSU-om imaju niže vrijednosti salivarnoga melatonina, lošiju kvalitetu sna i lošiju kvalitetu života, u odnosu na zdrave ispitanike. Težina i aktivnost KSU-e linearno su proporcionalno povezani s kvalitetom života i kvalitetom sna u tih bolesnika, uz jaku korelaciju s kvalitetom života i slabu korelaciju s kvalitetom sna. Porastom težine i aktivnosti KSU-u, raste narušenost kvalitete života i kvalitete sna.

Također, u bolesnika s KSU-om koncentracija salivarnoga melatonina nije povezana s kvalitetom sna i kvalitetom života.

## 7. LITERATURA

1. Darlenski R, Kazijieva J, Zuberbier T, et al. Chronic urticaria as a systemic disease. *Clin Dermatol*. 2014;32(3):420-3.
2. Leru P. Urticaria-an allergologic, dermatologic or multidisciplinary disease? *Rom J Intern Med*. 2013; 51(3-4):125-30.
3. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, et al. The international EAACI/GA<sup>2</sup>LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. 2022; 77(3):734-66.
4. Guo C, Saltoun C. Urticaria and angioedema. *Allergy Asthma Proc*. 2019 Nov 1;40(6):437-40.
5. Bologna, J, Jorizzo, JL, Schaffer, JV (2018.). *Dermatology*. [Philadelphia], Elsevier Saunders.
6. Sarbjit S. Chronic spontaneous urticaria: Clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis, and natural history. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/chronic-spontaneous-urticaria-clinical-manifestations-diagnosis-pathogenesis-i-natural-history>.
7. Maurer M, Weller K, Bindslev-Jensen C, et al. Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria. A GA<sup>2</sup>LEN task force report. *Allergy*. 2011;66(3):317-30
8. Maurer M, Zuberbier T, Metz M. The Classification, Pathogenesis, Diagnostic Workup, and Management of Urticaria: An Update. *Handb Exp Pharmacol*. 2022;268:117-33.
9. Rosman Y, Hershko AY, Meir-Shafir K, et al. Characterization of chronic urticaria and associated conditions in a large population of adolescents. *J Am Acad Dermatol*. 2019 Jul;81(1):129-35.
10. Kozel MM, Bossuyt PM, Mekkes JR, Bos JD. Laboratory tests and identified diagnoses in patients with physical and chronic urticaria and angioedema: A systematic review. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48:409.
11. Confino-Cohen R, Chodick G, Shalev V, et al. Chronic urticaria and autoimmunity: associations found in a large population study. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(5):1307-13

12. Lugović Mihić L, Bukvić I, Bulat V, et al. Factors contributing to chronic urticaria/angioedema and nummular eczema resolution - which lab tests are crucial? *Acta Clin Croat* 2019; 58:595-603
13. Chen YJ, Wu CY, Shen JL, et al. Cancer risk in patients with chronic urticaria: a population-based cohort study. *Arch Dermatol* 2012; 148:103.
14. Gonçalo M, Giménez-Arnau A, Al-Ahmad M, et al. The global burden of chronic urticaria for the patient and society. *Br J Dermatol.* 2021; 184:226-36.
15. Saini SS, Kaplan AP. Chronic Spontaneous Urticaria: The Devil's Itch. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018 ;6(4):1097-106.
16. Spoerl D, Nigolian H, Czarnetzki C, et al. Reclassifying anaphylaxis to neuromuscular blocking agents based on the presumed patho-mechanism: IgE-mediated, pharmacological adverse reaction or "innate hypersensitivity"? *Int J Mol Sci.* 2017 7;18(6):1223.
17. Papakonstantinou E. Introductory Chapter: Urticaria-Meeting the Diagnostic and Therapeutic Challenge. In *Urticaria-Diagnosis and Management 2021 Oct 20.* IntechOpen.
18. Bracken SJ, Abraham S, MacLeod AS. Autoimmune Theories of Chronic Spontaneous Urticaria. *Front Immunol.* 2019; 29;10:627.
19. Haas N, Schadendorf D, Henz BM. Differential endothelial adhesion molecule expression in early and late whealing reactions. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 115: 210-14.
20. Ying S, Kikuchi Y, Meng Q, et al.. TH1/TH2 cytokines and inflammatory cells in skin biopsy specimens from patients with chronic idiopathic urticaria: comparison with the allergen-induced late-phase cutaneous reaction. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109(4):694-700.
21. Saini S, Shams M, Bernstein JA, et al. Urticaria and Angioedema Across the Ages. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020; 8(6):1866-74.
22. Kay AB, Clark P, Maurer M, et al. Elevations in T-helper-2-initiating cytokines (interleukin-33, interleukin-25 and thymic stromal lymphopoietin) in lesional skin from chronic spontaneous ('idiopathic') urticaria. *Br J Dermatol.* 2015;172(5):1294-302.

23. Grattan CE, Walpole D, Francis DM et al. Flow cytometric analysis of basophil numbers in chronic urticaria: basopenia is related to serum histamine releasing activity. *Clin Exp Allergy*. 1997;27(12):1417-24.
24. Oliver ET, Sterba PM, Saini SS. Interval shifts in basophil measures correlate with disease activity in chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. 2015;70(5):601-3.
25. Johal KJ, Chichester KL, Oliver ET, et al. The efficacy of omalizumab treatment in chronic spontaneous urticaria is associated with basophil phenotypes. *J Allergy Clin Immunol*. 2021; 147(6):2271-80.e8.
26. Greaves MW. Chronic urticaria. *N Engl J Med* 1995;332:1767-72.
27. Yosipovitch G, Ansari N, Goon A, et al. Clinical characteristics of pruritus in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol*. 2002;147(1):32-6.
28. Ograczyk-Piotrowska A, Gerlicz-Kowalczyk Z, Pietrzak A, et al. Stress, itch and quality of life in chronic urticaria females. *Postepy Dermatol Alergol*. 2018;35(2):156-160.
29. Seiffert K, Hilbert E, Schaechinger H, et al. Psychophysiological reactivity under mental stress in atopic dermatitis. *Dermatology* 2005; 210: 286-93.
30. Verhoeven L, Kraaimaat FW, Duller P, et al. Cognitive, behavioral and physiological reactivity to chronic itching: analogies to chronic pain. *Int J Behav Med* 2006; 13: 237-43.
31. Verhoeven EW, de Klerk S, Kraaimaat FW, et al. Biopsychosocial mechanisms of chronic itch in patients with skin diseases: a review. *Acta Derm Venereol*. 2008;88(3):211-8.
32. Antia C, Baquerizo K, Korman A, et al. Urticaria: A comprehensive review: Epidemiology, diagnosis, and work-up. *J Am Acad Dermatol*. 2018;79(4):599-614.
33. Młynek A, Zalewska-Janowska A, Martus P, et al. How to assess disease activity in patients with chronic urticaria? *Allergy*. 2008; 63(6):777-80.
34. Hawro T, Ohanyan T, Schoepke N, et al. The Urticaria Activity Score-Validity, Reliability, and Responsiveness. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(4):1185-90.e1.
35. Kulthanan K, Chularojanamontri L, Rujitharanawong C, et al. Angioedema Activity Score (AAS): A Valid and Reliable Tool to Use in Asian Patients. *Biomed Res Int*. 2019; 31;2019:9157895.

36. Pozderac I, Lugović-Mihić L, Artuković M, et al. Chronic inducible urticaria: classification and prominent features of physical and non-physical types. *Acta papaDermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2020;29(3):141-8.
37. Marzano AV, Tavecchio S, Venturini M, et al. Urticarial vasculitis and urticarial autoinflammatory syndromes. *G Ital Dermatol Venereol.* 2015;150(1):41-50.
38. Weller K, Groffik A, Church MK, et al. Development and validation of the Urticaria Control Test: a patient-reported outcome instrument for assessing urticaria control. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(5):1365-72, 1372.e1-6.
39. Guillén-Aguinaga S, Jáuregui Presa I, Aguinaga-Ontoso E, et al. Updosing nonsedating antihistamines in patients with chronic spontaneous urticaria: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2016;175(6):1153-65.
40. Kaplan AP, Giménez-Arnau AM, Saini SS. Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria. *Allergy.* 2017;72(4):519-33.
41. Johal KJ, Saini SS. Current and emerging treatments for chronic spontaneous urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2020;125(4):380-87.
42. Vena GA, Cassano N, Colombo D, et al; Neo-I-30 Study Group. Cyclosporine in chronic idiopathic urticaria: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55(4):705-9.
43. Lugović-Mihić L, Bešlić I. U: Lugović-Mihić L, i sur. *Urtikarije i egzemi/dermatitisi.* 2022, Zagreb: Medicinska naklada, str. 8-14.
44. Arm JP, Bottoli I, Skerjanec A, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of QGE031 (ligelizumab), a novel high-affinity anti-IgE antibody, in atopic subjects. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(11):1371-85.
45. Gonçalo M, Giménez-Arnau A, Al-Ahmad M, et al. The global burden of chronic urticaria for the patient and society. *Br J Dermatol.* 2021;184(2):226-36.
46. Baiardini I, Pasquali, M, Braido, F, et al. A new tool to evaluate the impact of chronic awurticaria on quality of life: chronic urticaria quality of life questionnaire (CU-QoL). *Allergy.* 2005;60: 1073-8.
47. Maurer M, Giménez-Arnau A, Ensina LF, et al. Chronic urticaria treatment patterns and changes in quality of life: AWARE study 2-year results. *World Allergy Organ J.* 2020; 13(9):100460.

48. Schut C, Magerl M, Hawro T, et al. Disease activity and stress are linked in a subpopulation of chronic spontaneous urticaria patients. *Allergy*. 2020;75(1):224-26.
49. Pasaoglu G, Bavbek S, Tugcu H, et al. Psychological status of patients with chronic urticaria. *J Dermatol*. 2006;33(11):765-71.
50. Sperber J, Shaw J, Bruce S. Psychological components and the role of adjunct interventions in chronic idiopathic urticaria. *Psychother Psychosom*. 1989;51:135-41.
51. Konstantinou, GN Konstantinou, GN. Psychiatric comorbidity in chronic urticaria patients: a systematic review i meta-analysis. *Clin Transl Allergy*. 2019;9:42-52.
52. Gupta MA, Gupta AK, Schork NJ, et al. Depression modulates pruritus perception: a study of pruritus in psoriasis, atopic dermatitis, and chronic idiopathic urticaria. *Psychosom Med*.1994;56:36-40.
53. Chu CY, Cho YT, Jiang JH, et al. Patients with chronic urticaria have a higher risk of psychiatric disorders: a population-based study. *Br J Dermatol*. 2020;182(2):335-41.
54. Kaaz K, Szepietowski JC, Matusiak Ł. Sleep quality among adult patients with chronic dermatoses. *Postepy Dermatol Alergol*. 2019 ;36(6):659-66.
55. Ates H, Firat S, Buhari GK, et al. Relationships between quality of life, sleep problems, and sleep quality in patients with chronic idiopathic urticaria. *J Cosmet Dermatol*. 2022; 14. Epub ahead of print.
56. Amaral FGD, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab*. 2018;62(4):472-9.
57. Tekieh T, Lockley SW, Robinson PA, et al. Modeling melanopsin-mediated effects of light on circadian phase, melatonin suppression, and subjective sleepiness. *J Pineal Res*. 2020 ;69(3):e12681.
58. Bonmati-Carrion MA, Arguelles-Prieto R, Martinez-Madrid MJ, et al. Protecting the melatonin rhythm through circadian healthy light exposure. *Int J Mol Sci*. 2014 17;15(12):23448-500.
59. Gómez-Moreno G, Guardia J, Ferrera MJ, et al. Melatonin in diseases of the oral cavity. *Oral Dis*. 2010;16(3):242-7.
60. Hardeland R. Taxon- and Site-Specific Melatonin Catabolism. *Molecules*. 2017; 22(11):pii: E2015.

61. Van Faassen M, Bischoff R, Kema IP. Relationship between plasma and salivary melatonin and cortisol investigated by LC-MS/MS. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(9):1340-8.
62. Laakso M-L, Porkka-Heiskanen T, Alila A, et al. Correlation Between Salivary and Serum Melatonin: Dependence on Serum Melatonin Levels. *J Pineal Res*. 1990;9(1):39-50.
63. De Almeida EA, Di Mascio P, Harumi T, et al. Measurement of melatonin in body fluids: Standards, protocols and procedures. *Childs Nerv Syst*. 2011;27(6):879-91.
64. Musiek ES, Holtzman DM. Mechanisms linking circadian clocks, sleep, and neurodegeneration. *Science*. 2016; 25;354(6315):1004-8.
65. Zisapel N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation. *Br J Pharmacol*. 2018;175(16):3190-9.
66. Chojnowska S, Ptaszyńska-Sarosiek I, Kępka A, et al. Salivary Biomarkers of Stress, Anxiety and Depression. *J Clin Med*. 2021; 1;10(3):517.
67. Xie Z, Chen F, Li WA, et al. A review of sleep disorders and melatonin. *Neurol Res*. 2017;39(6):559-65.
68. Neubauer DN. Pharmacotherapy for insomnia in adults. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/pharmacotherapy-for-insomnia-in-adults>
69. Palagini L, Manni R, Aguglia E, et al. International Expert Opinions and Recommendations on the use of melatonin in the treatment of insomnia and circadian sleep disturbances in adult neuropsychiatric disorders. *Front Psychiatry*. 2021; 10;12:688890.
70. Herxheimer A, Petrie KJ. Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(2):CD001520.
71. Kruk J, Aboul-Enein BH, Duchnik E. Exercise-induced oxidative stress and melatonin supplementation: current evidence. *J Physiol Sci*. 2021; 1;71(1):27.
72. Bartlett DJ, Biggs SN, Armstrong SM. Circadian rhythm disorders among adolescents: assessment and treatment options. *Med J Aust*. 2013;199:S16–S20.
73. Goldman SE, Adkins KW, Calcutt MW, et al. Melatonin in children with autism spectrum disorders: endogenous and pharmacokinetic profiles in relation to sleep. *J Autism Dev Disord*. 2014;44:2525–35.



74. Shechter A, Lesperance P, Ng YKN, et al. Nocturnal polysomnographic sleep across the menstrual cycle in premenstrual dysphoric disorder. *Sleep Med.* 2012;13:1071–8.
75. Scheer FA, Morris CJ, Garcia JI, et al. Repeated melatonin supplementation improves sleep in hypertensive patients treated with beta-blockers: a randomized controlled trial. *Sleep.* 2012;35:1395–1402.
76. Holvoet E, Gabriels L. Disturbed sleep in children with ADHD: is there a place for melatonin as a treatment option? *Tijdschr Psychiatr.* 2013;55:349–57.
77. Talib WH. Melatonin and Cancer Hallmarks. *Molecules.* 2018; 26;23(3):518.
78. Chang YS, Lin MH, Lee JH, et al. Melatonin supplementation for children with atopic dermatitis and sleep disturbance: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr.* 2016;170:35–42.
79. Zhou LL, Baibergenova A. Melasma: systematic review of the systemic treatments. *Int J Dermatol.* 2017;56(9):902-8.
80. Fischer TW, Trüeb RM, Hänggi G, et al. Topical melatonin for treatment of androgenetic alopecia. *Int J Trichology.* 2012;4(4):236-45.
81. Balaji TM, Varadarajan S, Jagannathan R, et al. Melatonin as a Topical/Systemic Formulation for the Management of Periodontitis: A Systematic Review. *Materials (Basel).* 2021; 6;14(9):2417.
82. Slominski AT, Hardeland R, Zmijewski MA, et al. Melatonin: A Cutaneous Perspective on its Production, Metabolism, and Functions. *J Invest Dermatol.* 2018;138(3):490-9.
83. Kim TK, Lin Z, Li W, et al. N1-Acetyl-5-Methoxykynuramine (AMK) is produced in the human epidermis and shows antiproliferative effects. *Endocrinology.* 2015a; 156:1630–6.
84. Hamadi SA, Mohammed MM, Aljaf AN, et al. The role of topical and oral melatonin in management of melasma patients. *J Assn Arab Univ Basic Appl Sci* 2010; 1: 30–42.
85. Sarkar R, Devadasan S, Choubey V, et al. Melatonin and oxidative stress in melasma - an unexplored territory; a prospective study. *Int J Dermatol.* 2020;59(5):572-5.
86. Cohen PR. Systemic treatments for melasma: adjuvant therapy with a novel topical agent. *Int J Dermatol.* 2018;57(3):e20-1.
87. Gupta AK, Talukder M, Bamimore MA. Natural products for male androgenetic alopecia. *Dermatol Ther.* 2022; 19:e15323.

88. Zhang H, Zhang Y, Li Y, et al. Bioinformatics and Network Pharmacology Identify the Therapeutic Role and Potential Mechanism of Melatonin in AD and Rosacea. *Front Immunol.* 2021; 23;12:756550.
89. Garcia-Segura LC, Garcia-Segura JC, Delgado DC, et al. Compounded Melatonin Cream for the Prevention and Treatment of Radiation Dermatitis: A Case Report. *Int J Pharm Compd.* 2022;26(1):6-8.
90. Pourhanifeh MH, Mahdavinia M, Reiter RJ, et al. Potential use of melatonin in skin cancer treatment: A review of current biological evidence. *J Cell Physiol.* 2019;234(8):12142-8.
91. Bocheva G, Slominski RM, Janjetovic Z, et al. Protective Role of Melatonin and Its Metabolites in Skin Aging. *Int J Mol Sci.* 2022; 22;23(3):1238.
92. Day D, Burgess CM, Kircik LH. Assessing the Potential Role for Topical Melatonin in an Antiaging Skin Regimen. *J Drugs Dermatol.* 2018; 1;17(9):966-9.
93. Schwarz W, Birau N, Hornstein OP, et al. Alterations of melatonin secretion in atopic eczema. *Acta Derm Venereol.* 1988;68(3):224-9.
94. Muñoz-Hoyos A, Espín-Quirantes C, Molina-Carballo A, et al. Neuroendocrine and circadian aspects (melatonin and beta-endorphin) of atopic dermatitis in the child. *Pediatr Allergy Immunol.* 2007;18(8):679-86.
95. Kimata H. Elevation of salivary melatonin levels by viewing a humorous film in patients with atopic eczema. *Horm Metab Res.* 2007;39(4):310-1.
96. Chang YS, Chou YT, Lee JH, et al. Atopic dermatitis, melatonin, and sleep disturbance. *Pediatrics.* 2014;134(2):e397-405.
97. Jaworek AK, Jaworek M, Szafraniec K, et al. Melatonin and sleep disorders in patients with severe atopic dermatitis. *Postepy Dermatol Alergol.* 2021;38(5):746-51.
98. Tsiskarishvili T, Katsitadze A, Tsiskarishvili NV, et al. Features of rosacea pathogenesis in perimenopausal women. *Georgian Med News.* 2018 Sep;(282):99-102.
99. Mozzanica N, Tadini G, Radaelli A, et al. Plasma melatonin levels in psoriasis. *Acta Derm Venereol.* 1988;68(4):312-6.
100. Tsiskarishvili NI, Katsitadze A, Tsiskarishvili NV, et al. Melatonin concentration in the blood of vitiligo patients with stress in anamnesis. *Georgian Med News.* 2016;(254):47-53.

101. Wong DT. Salivary diagnostics. *Oper Dent*. 2012;37(6):562-70.
102. Andabak Rogulj A, Bakale Hodak I, Mravak-Stipetić M. Slina – dijagnostički medij za rano otkrivanje bolesti. *Medix*. 2011; XVII;96.
103. Vodanović M. Slina, salivarna dijagnostika i biomarkeri. *Zdrav život : obiteljski magazin o zdravlju*. 2015; 131: 52-5
104. Ferguson D. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Acta Stomatol Croat*. 2009;43(2):77-82.
105. Lozano-Lorca M, Olmedo-Requena R, Rodríguez-Barranco M, et al. Salivary Melatonin Rhythm and Prostate Cancer: CAPLIFE Study. *J Urol*. 2022;207(3):565-72.
106. Saeralaathan S, Rajkumar A, Balaji TM, et al. Salivary melatonin is depleted in patients with dental caries due to the elevated oxidative stress. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2021;11(4):547-51.
107. Fang L, Yu Q, Yin F, et al. Combined cortisol and melatonin measurements with detailed parameter analysis can assess the circadian rhythms in bipolar disorder patients. *Brain Behav*. 2021;11(7):e02186.
108. Kudo N, Shinohara H, Kagabu S, et al. Evaluation of salivary melatonin concentrations as a circadian phase maker of morning awakening and their association with depressive mood in postpartum mothers. *Chronobiol Int*. 2021;38(10):1409-20.
109. Balaji TM, Rao SR. Salivary, Plasma, and Gingival Levels of Melatonin and TNF- $\alpha$  in Nonsmokers and Current Smokers with and without Periodontal Disease. *J Contemp Dent Pract*. 2020;21(8):897-904.
110. Salarić I, Karmelić I, Lovrić J, et al. Salivary melatonin in oral squamous cell carcinoma patients. *Sci Rep*. 2021; 24;11(1):e13201.
111. Paul MA, Love RJ, Jetly R, et al. Blunted Nocturnal Salivary Melatonin Secretion Profiles in Military-Related Posttraumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry*. 2019 6;10:882.
112. Rzepka-Migut B, Paprocka J. Melatonin-Measurement Methods and the Factors Modifying the Results. A Systematic Review of the Literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 15;17(6):1916.
113. Brown GM, Grota LJ, Pulido O, et al. Application of immunologic techniques to the study of pineal indolealkylamines. *Pineal Res Rev*. 1983; 1: 208- 46.

114. Kennaway DJ. A critical review of melatonin assays: Past and present. *J Pineal Res.* 2019;67(1):e12572.
115. Lee JH, Bae YJ, Lee SH, et al. Adaptation and Validation of the Korean Version of the Urticaria Control Test and Its Correlation With Salivary Cortisone. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2019; 11(1):55-67.
116. Meštrović Štefekov J, Lugović-Mihić L, Hanžek M, et al. Salivary Cortisol Values and Personality Features of Atopic Dermatitis Patients: A Prospective Study. *Dermatitis.* 2022 Jan 25.
117. Česić D, Lugović-Mihić L, Ferček I, et al. Salivary Microbiota is significantly less diverse in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria compared to Healthy Controls. *Life (Basel).* 2021;11(12):1329.
118. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28(2):193-213.
119. Direct Saliva MELATONIN - BUHLMANN Diagnostics - priručnik za primjenu ELISE-analize. Available from: <https://www.buhlmannlabs.ch/>
120. Available from: <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/experimental-techniques/enzyme-linked-immunosorbent-assay>
121. Deza G, Ricketti PA, Giménez-Arnau AM, et al. Emerging Biomarkers and Therapeutic Pipelines for Chronic Spontaneous Urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018; 6(4):1108-17.
122. Carrascal L, Nunez-Abades P, Ayala A, et al. Role of Melatonin in the Inflammatory Process and its Therapeutic Potential. *Curr Pharm Des.* 2018;24(14):1563-88.
123. Zambrelli E, Lividini A, Spadavecchia S, et al. Effects of supplementation with antioxidant agents on sleep in autism spectrum disorder: a review. *Front Psychiatry.* 2021; 28;12:689277.
124. Wang XQ, Wang DQ, Bao YP, et al. Preliminary Study on Changes of Sleep EEG Power and Plasma Melatonin in Male Patients With Major Depressive Disorder After 8 Weeks Treatment. *Front Psychiatry.* 2021; 12;12:736318.

125. Yardimci A, Ozdede MR, Kelestimur H. Agomelatine, A Potential Multi-Target Treatment alternative for insomnia, depression, and osteoporosis in postmenopausal women: a hypothetical model. *Front Psychiatry*. 2021; 29;12:654616.
126. Marseglia L, Cuppari C, Manti S, et al. Atopic dermatitis: melatonin as potential treatment. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2015;29(2 Suppl 1):142-9.
127. Abdel Latif OM. Impact of severity of CSU on sleep, anxiety and depressive symptoms in adults. *Eur Acad Res*. 2017; 2:1145-57.
128. Boozalis E, Grossberg AL, Püttgen KB, et al. Itching at night: A review on reducing nocturnal pruritus in children. *Pediatr Dermatol*. 2018;35(5):560-5.
129. Jaworek AK, Szepietowski JC, Hałubiec P, et al. Melatonin as an antioxidant and immunomodulator in atopic dermatitis-a new look on an old story: a review. *Antioxidants (Basel)*. 2021; 24;10:1179.
130. Bertino L, Guarneri F, Cannavò SP, et al.. Oxidative stress and atopic dermatitis. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 26;9:196.
131. Balaji TM, Varadarajan S, Jagannathan R, et al. Melatonin levels in periodontitis vs. the healthy state: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2022;28(2):284-306.
132. Kaaz K, Szepietowski JC, Matusiak Ł. Sleep quality among adult patients with chronic dermatoses. *Postepy Dermatol Alergol*. 2019;36(6):659-66.
133. Sánchez-Borges M, Ansotegui IJ, Baiardini I, et al. The challenges of chronic urticaria part 1: Epidemiology, immunopathogenesis, comorbidities, quality of life, and management. *World Allergy Organ J*. 2021; 1;14(6):100533.
134. Asero R, Cugno M. Biomarkers of chronic spontaneous urticaria and their clinical implications. *Expert Rev Clin Immunol*. 2021;17(3):247-254.
135. Maurer M, Abuzakouk M, Bérard F, et al. The burden of chronic spontaneous urticaria is substantial: Real-world evidence from ASSURE-CSU. *Allergy*. 2017;72(12):2005-16.
136. Paudel S, Parajuli N, Sharma RP, et al. Chronic Urticaria and Its Impact on the Quality of Life of Nepalese Patients. *Dermatol Res Pract*. 2020 Nov 28;2020:6694191.

137. Nakatani S, Oda Y, Washio K, et al. The Urticaria Control Test and Urticaria Activity Score correlate with quality of life in adult Japanese patients with chronic spontaneous urticaria. *Allergol Int.* 2019;68(2):279-81.
138. Kocatürk E, Kızıldağ U, Can P, et al. Validation of the Turkish version of the Urticaria Control Test: Correlation with other tools and comparison between spontaneous and inducible chronic urticaria. *World Allergy Organ J.* 2019; 26;12(1):100009.
139. Ates H, Firat S, Buhari GK, et al. Relationships between quality of life, sleep problems, and sleep quality in patients with chronic idiopathic urticaria. *J Cosmet Dermatol.* 2022 ;14.
140. Filiz S, Kutluk MG, Uygun DFK. Headache deteriorates the quality of life in children with chronic spontaneous urticaria. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2019;47(3):254-9.
141. Giménez-Arnau A, Maurer M, Bernstein J, et al. Ligelizumab improves sleep interference and disease burden in patients with chronic spontaneous urticaria. *Clin Transl Allergy.* 2022;12(2):e12121.
142. Erol K, Ertaş ŞK, Ertaş R. Fatigue Is Common and Predicted by Female Gender and Sleep Disturbance in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(1):469-76.
143. Xerfan EMS, Andersen ML, Facina AS, et al. Sleep loss and the skin: Possible effects of this stressful state on cutaneous regeneration during nocturnal dermatological treatment and related pathways. *Dermatol Ther.* 2022 Feb;35(2):e15226
144. Chang YS, Chou YT, Lee JH, et al. Atopic dermatitis, melatonin, and sleep disturbance. *Pediatrics.* 2014;134(2):e397-405.

## 8. PRILOZI

### PRILOG 1

#### INFORMIRANI PRISTANAK ZA BOLESNIKE

##### **„Povezanost koncentracije salivarnoga melatonina, kvalitete sna i kvalitete života s težinom kliničke slike kronične spontane urtikarije“.**

Istraživač: Iva Bešlić, dr. med. ; Kontakt istraživača: [ivaaabukvic@gmail.com](mailto:ivaaabukvic@gmail.com), 095/913-6188

Poštovani/Poštovana,

ovim putem pozivamo Vas da dobrovoljno sudjelujete u znanstvenom istraživanju u kojem će se utvrditi koncentracija melatonina u Vašem uzorku sline, aktivnost Vaše bolesti i njen utjecaj na kvalitetu života i kvalitetu spavanja.

Istraživanje se provodi u Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice u Zagrebu (Ambulanta za alergologiju i kliničku imunologiju). Istraživanje provodi Iva Bešlić, dr. med. uz mentorstvo prof. dr. sc. Liborije Lugović-Mihić.

U ovo istraživanje bit će uključeno 35 bolesnika/bolesnica s tipičnom kliničkom slikom kronične spontane urtikarije kod kojih će inicijalno biti učinjen pregled specijaliste dermatovenerologa koji će bolesnike uključiti u istraživanje. Iste bolesnike će pregledati i oralni patolog kako bi se isključile patološke promjene u usnoj šupljini koje također mogu utjecati na vrijednosti salivarnog melatonina. Bolesnici, kod kojih se pronađe određeno patološko stanje, bit će isključeni iz istraživanja. Svaki bolesnik će dobiti četiri upitnika: Urticaria Activity Score (UAS), Urticaria Control Test (UCT), Dermatology Life Quality Index (DLQI) i Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI), koja će morati ispuniti i salivetu za svoj uzorak sline. Svaki bolesnik će dobiti detaljne upute o sakupljanju sline, a najvažnije je da se uzorak uzme između 22h i 24h, prema preporuci proizvođača reagensa. UAS upitnik ispunjava se svakog dana tijekom sedam dana, UCT i DLQI u jednom navratu, a za PSQI najvažnije je da se ispuni isti dan kada se uzima i uzorak sline. Uzorci sline se mogu pohraniti u hladnjaku na četiri stupnja C do 72 sata, potom se pohranjuju u hladnjak na -80 stupnjeva C. U ovom istraživanju sudjeluje i kontrolna skupina koja će ispuniti upitnik kvalitete života i upitnik o kvaliteti sna te dati uzorak sline za određivanje vrijednosti koncentracije melatonina.

Sudjelovanje u ovom istraživanju ne donosi Vam nikakvu izravnu materijalnu korist. Nije predviđena financijska ili druga kompenzacija. U navedenom istraživanju neće se koristiti audio/video/elektronički zapisi. Dobiveni rezultati koristit će se isključivo u znanstveno-istraživačke svrhe, a Vaši osobni podaci ostat će tajni. Osobni podaci neće se koristiti u daljnjem istraživanju. Svi sudionici vodit će se pod kodnim brojem. Identitet sudionika bit će sačuvan prema načelima profesionalne liječničke tajne. Istraživanje se provodi sa svim primjenjivim smjernicama, čiji je cilj osigurati pravilno provođenje i sigurnost osoba koje sudjeluju u ovom istraživanju, uključujući Osnove dobre kliničke prakse i Helsinšku deklaraciju.

Hvala što ste pročitali ovu obavijest i razmotrili sudjelovanje u ovom znanstvenom istraživanju. Ispitanik u svakom trenutku može odustati od sudjelovanja u ovom istraživanju.

Ova obavijest je sastavljena u skladu s odredbama Zakona o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN121/03) i Zakona o pravima pacijenata (NN 169/04).

Potpis istraživača

Potpis informiranog pristanka bolesnika

---

---

Potpis sudionika koji naknadno želi odustati od sudjelovanja u istraživanju:

## **PRILOG 2**

### **UPUTE O UZORKOVANJU SLINE**

1. Uzorkovanje se izvodi u stajaćem položaju
2. Ne smije se jesti ni piti minimalno dva sata prije početka sakupljanja sline, a neposredno prije toga valja izbjegavati hranu s visokim sadržajem šećera, kiselu hranu ili kofein, jer snižavaju pH sline.
3. Potrebno je dobro isprati usnu šupljinu vodom da se uklone ostaci hrane i pričekati desetak minuta do početka sakupljanja, kako bi se izbjeglo razrjeđivanje sline.
4. Dvanaest sati prije uzorkovanja potrebno je izbjegavati cigarete i alkohol.
5. U slučaju oštećenja sluznice i/ili infekcije usne šupljine, molim odgoditi uzorkovanje.

Uzorak sline se nakon sakupljanja drži na ledu do analize, kako bi se spriječilo djelovanje bakterija i proteaza. Maksimalno vrijeme u kojem se uzorak pohranjuje u hladnjaku na 2-8 stupnjeva C iznosi 72 sata.



### PRILOG 3

#### Hrvatska inačica *Urticaria Activity Score-a*

Urticaria Activity Score (UAS)									
DATUM:	DNEVNI BROJ URTIKA				+	DNEVNI INTENZITET SVRBEŽA=UAS			
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=
0	1	2	3	+	0	1	2	3	=

0 = bez urtika/bez svrbeža  
1=1-6 urtika/ blagi svrbež  
2=7-12 urtika/umjeren svrbež  
3=više od 12 urtika/snažan svrbež

Postignut broj bodova:

## PRILOG 4

### Hrvatska inačica *Urticaria Control Test-a*

Molimo Vas, ograničite se na vremenski period od 4 tjedna.

1. Koliko su Vas smetali simptomi urtikarije (svrbež, urtike i/ili oticanje) u posljednja 4 tjedna?

a) Jako puno; b) puno; c) nešto; d) malo; e) uopće me nisu smetali

2. Koliko je urtikarija utjecala na Vašu kvalitetu života u posljednja 4 tjedna?

a) Jako puno; b) puno; c) nešto; d) malo; e) uopće nije utjecala

3. Koliko često Vaša terapija za urtikariju nije bila dovoljna da kontrolira Vaše simptome u posljednja 4 tjedna?

a) Vrlo često; b) često; c) ponekad; d) rijetko; e) nikad

4. U kojoj mjeri smatrate da je Vaša urtikarija bila pod kontrolom u posljednja 4 tjedna?

a) Uopće nije bila pod kontrolom; b) loše kontrolirana; c) ponešto kontrolirana; d) dobro kontrolirana; e) jako dobro je kontrolirana.

Postignuti broj bodova:

## Prilog 5

### Hrvatska inačica DLQI-a

#### **DERMATOLOŠKI INDEKS KVALITETE ŽIVOTA (DLQI)**

1. Tijekom proteklog tjedna, koliko Vas je koža svrbila, bila osjetljiva, boljela ili peckala?

a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

2. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri ste se zbog stanja Vaše kože osjećali neugodno ili upadljivo? a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

3. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože ometalo odlazak u kupovinu ili održavanje Vašeg doma ili vrta?

a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

4. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože utjecalo na odabir odjeće koju ste nosili? a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

5. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože utjecalo na Vaše društvene ili slobodne aktivnosti? a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

6. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože otežalo bavljenje sportom? a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

7. Tijekom proteklog tjedna, je li Vas stanje Vaše kože sprječavalo u radu ili učenju?

Da / Ne

Ako je odgovor NE, u kojoj mjeri tijekom proteklog tjedna stanje Vaše kože bilo problem pri obavljanju poslu ili pri učenju?

a) mnogo; b) malo; c) nimalo

8. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je Vaša koža stvarala probleme u odnosu s partnerom ili s nekim od Vaših bliskih prijatelja ili rođaka?

a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

9. Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je stanje Vaše kože uzrokovalo neke seksualne poteškoće? a) Vrlo mnogo b) mnogo c) malo d) nimalo

10. Tijekom proteklog tjedna, koliki problem Vam je predstavljalo liječenje Vaše kože, primjerice tako da Vam je stvaralo nered u kući ili Vam oduzimalo vrijeme?

a) Vrlo mnogo; b) mnogo; c) malo; d) nimalo

Postignuti bodovi:

## Prilog 6

### Hrvatska inačica PSQI-a

#### INDEKS KVALITETE SNA (PSQI)

Sljedeća se pitanja odnose na Vaše uobičajene navike spavanja u zadnjih mjesec dana.

Vaši odgovori trebaju se odnositi na ono što je točno za većinu dana i noći u proteklom mjesecu.

U zadnjih mjesec dana...

1. ... u koliko ste sati obično odlazili u krevet? \_\_\_\_\_
2. koliko vremena (u minutama) Vam je obično trebalo da zaspate? \_\_\_\_\_
3. u koliko ste sati obično ujutro ustajali iz kreveta? \_\_\_\_\_
4. Koliko ste sati zaista spavali po noći? \_\_\_\_ (ovo trajanje može se razlikovati od broja sati koje ste proveli u krevetu) \_\_\_\_\_

Na sljedeća pitanja odgovorite tako da označite jedan odgovor.

U zadnjih mjesec dana, koliko ste često imali problema sa spavanjem zbog toga što...

#### 5. Niste uspjeli zaspati unutar 30 minuta?

- a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)
- b) Manje od jednom tjedno (1)
- c) Jednom ili dvaput tjedno (2)
- d) Tri ili više puta tjedno (3)

#### 6. Probudili ste se usred noći ili rano ujutro?

- a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)
- b) Manje od jednom tjedno (1)
- c) Jednom ili dvaput tjedno (2)
- d) Tri ili više puta tjedno (3)

#### 7. Morali ste se ustati kako biste otišli na wc?

- a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)
- b) Manje od jednom tjedno (1)
- c) Jednom ili dvaput tjedno (2)
- d) Tri ili više puta tjedno (3)

#### 8. Otežano disali?

- a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)
- b) Manje od jednom tjedno (1)
- c) Jednom ili dvaput tjedno (2)
- d) Tri ili više puta tjedno (3)

#### 9. Kašljali ste ili glasno hrkali?

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

**10. Bilo vam je hladno?**

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

**11. Bilo vam je prevruće?**

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

**12. Imali ste noćne more?**

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

**13. Bili ste u bolovima?**

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

drugi razlog/razlozi, molim Vas opišite ih \_\_\_\_\_

**14. Drugi razlog;** koliko ste često u zadnjih mjesec dana imali problema sa spavanjem...

zbog toga?

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

**15.** U zadnjih mjesec dana, koliko često ste uzimali lijekove za spavanje, koje možete kupiti u slobodnoj prodaji u ljekarni?

a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)

b) Manje od jednom tjedno (1)

c) Jednom ili dvaput tjedno (2)

d) Tri ili više puta tjedno (3)

16. U zadnjih mjesec dana, koliko ste često imali problema s održavanjem budnosti za vrijeme vožnje, obroka ili u sudjelovanju u društvenim aktivnostima?

- a) Nijednom u zadnjih mjesec dana (0)
- b) Manje od jednom tjedno (1)
- c) Jednom ili dvaput tjedno (2)
- d) Tri ili više puta tjedno (3)

17. U zadnjih mjesec dana, koliki vam je bio problem da obavite sve ono što ste trebali?

- a) To mi uopće nije bio problem (0)
- b) To mi je bio vrlo mali problem (1)
- c) To mi je prilično bio problem (2)
- d) To mi je bio vrlo veliki problem (3)

18. Kako biste ocijenili kvalitetu svog spavanja u posljednjih mjesec dana?

- a) Vrlo dobra (0)
- b) Prilično dobra (1)
- c) Prilično loša (2)
- d) Vrlo loša (3)

Postignuti bodovi:

## **Prilog 7.**

### **Protokol za ELISA-analizu melatonina**

#### **UPUTA ZA ELISA ANALIZU MELATONINA**

#### **Napomene prije početka rada**

Uvijek obilježi flomasterom oznake stupaca (1-12) i redova (A-H) na pločici

Pipetiraj 120  $\mu$ L sline u prazne (predilucijske pločice)

Potom pipetiraj multikanalnom pipetom uzorke strip po strip

Odpipetiraj po 100  $\mu$ L standarda i kontrola jednokanalnom pipetom

#### **Priprema uzoraka:**

1. Potrebno je odlediti uzorke sline te centrifugirati 10 min na 2000-3000 g da se uklone vidljivi komadići
2. Minimalni volumen uzorka: 0,5 mL

#### **Sastav kita:**

1. **Mikrotitarska pločica** – 96 jažica
2. **Antiserum; AS** – 1 x 7 ml
3. **Biotin** – 1 x 12 ml
4. **Konjugat** – 1 x 12 ml
5. **Wash Buffer** – 1 x 50 ml
6. **TMB Supstrat** – 1 x 15 ml
7. **Stop otopina** – 1 x 15 ml
8. **3 adhezivne folije**
9. **Standardi (A-F) i 2 razine QC**

#### **Priprema otopina ( opisana priprema odnosi se na količinu pufera otopine potrebne za 4 stripa)**

1. **"WASH BUFFER"** – cijela bočica do 1000 mL ili
2. 10 mL pufera staviti u tikvicu od 200 mL i nadopuniti s vodom

#### **Dilucija uzorka:**

Ukoliko je vrijednost melatonina u uzorku sline  $> 50$  pg/ml potrebno je uzorke razrijediti s Standardom A (1:10). Diluciju je potrebno raditi u staklenim epruvetama (13  $\mu$ L + 117  $\mu$ L)

Ovisno o broju uzoraka u seriji, pipetiraj (po 100  $\mu$ L razrjeđenja) ili direktno uzorak po uzorak u jažice (samo ako imaš 1-2 stripa u izradi)

Iva Bešlić, Doktorski rad

Preporuka je koristiti predilucijsku pločicu (u predilucijsku ide 120  $\mu\text{L}$  razrjeđenja), a potom po 100  $\mu\text{L}$  u ELISA jažice multikanalnom pipetom.



### Postupak izrade ELISE:

**Radi bolje vidljivosti i kontrole pipetiranja, predilucijsku pločicu je potrebno obilježiti flomasterom:**

**stupce od 1-12;**

**redove A-H**

1. Preporuka je da se zbog optimiranja brzine pipetiranja uzoraka na pločicu, uzorci prirede na tzv PREDILUCIJSKOJ PLOČICI, volumen mora biti za min 20 $\mu$ L veći od volumena uzorka koji se pipetira u ELIZA jažice.
2. Pipetirati <b>100 uL standarda, kontrole, a uzorke s predilucijske jažice uz pomoć multikanalne pipete</b> u pripadajuće jažice.
3. Odmah dodati <b>50 uL antiseruma</b> , pokriti s adhezivnom folijom i promiješati na Magellanu (broji 1,2 ,3, pa prekini).
4. Inkubirati na temperaturi <b>2-8°C 16-20 h (hladnjak na imunokemiji/imunologiji)</b>
5. Maknuti adhezivnu foliju
6. Isprati pločicu <b>4 x 250 uL s Wash Bufferom (PROGRAM 15)</b>
7. Dodati <b>100 uL Biotin-a</b> i staviti adhezivnu foliju
8. Inkubirati <b>2 h na 18-25°C</b> na automatskoj miješalici (Magellan ili Thunderbolt) (500 rpm)
9. <b>Thunderbolt Tools, pokreni miješanje</b>
10. Maknuti adhezivnu foliju i pokrenuti ispranje,
11. isprati pločicu <b>4 x 250 uL s Wash Bufferom (PROGRAM 15)</b>
12. Dodati <b>100 uL Konjugata</b> i pokriti adhezivnom folijom
13. Inkubirati <b>1 h na 18-25°C</b> na automatskoj mješalici (Magellan ili Thunderbolt) (500 rpm)
14. <b>Thunderbolt Tools, pokreni miješanje</b>
15. Maknuti adhezivnu foliju
16. pokrenuti ispiranje isprati pločicu <b>4 x 250 uL s Wash Bufferom (PROGRAM 15)</b>
17. Dodati <b>100 uL supstrata</b>
18. Inkubirati <b>15 min na 18-25°C</b> na automatskoj miješalici (Magellan ili Thunderbolt) (500 rpm)
19. <b>Thunderbolt Tools, pokreni miješanje</b>
20. Dodati <b>100 uL Stop otopine</b> , kratko promiješati ( promjena boje iz plave u žutu)
21. Mjerenje OD na <b>450 nm (uz 630 nm)</b> unutar <b>15 min od dodatka Stop otopine na Magellanu i Thunderboltu; ručno očitavanje</b>

### Izračun rezultata:

Konverzija pg/ml u pmol/L: Melatonin (pg/ml) x 4,30 = pmol/L.

Vrijednosti Standarda:

A	0
B	0,5
C	1,5
D	5,0
E	15,0
F	50,0

## **9. ŽIVOTOPIS**

Iva Bešlić je rođena 08. rujna 1988.g. u Koprivnici. Završila je Opću gimnaziju „Fran Galović“ u Koprivnici s odličnim uspjehom. 2006.godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Nakon završenog pripravničkog staža na KBC-u Zagreb, radila je kao liječnica u Službi za školsku medicine Zavoda za javno zdravstvo, u farmaceutskoj industriji i kao liječnica opće medicine u Domu zdravlja Zagreb Istok.

2017. godine upisuje poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te se aktivno počinje baviti znanstvenim radom u području dermatologije i venerologije. 01.10.2019. započinje specijalizaciju iz područja dermatologije i venerologije za osobne potrebe na KBC-u Sestre milosrdnice. Autor je brojnih inozemnih i domaćih publikacija te aktivno sudjeluje na dermatološkim inozemnim i hrvatskim kongresima. Također je sudjelovala u znanstvenim projektima pri Stomatološkom fakultetu i Sveučilištu: „Ispitivanje mikrobioma kože kod bolesnika s perioroficijalnim dermatitisom“ (voditelj prof. Arjana Tambić-Andrašević) i „Obilježja mikrobioma i kvaliteta života bolesnika s upalnim bolestima kože“ (voditelj prof. Liborija Lugović Mihić).

Članica je Hrvatskog dermatovenerološkog društva, EADV-a i Međunarodnog dermatoskopskog društva.

Majka je 4-godišnje djevojčice Vite.

**Inozemne publikacije:**

1. Lugović-Mihić L, Novak-Bilić G, Vučić M, Japundžić I, **Bukvić I**. CD44 expression in human skin: high expression in irritant and allergic contact dermatitis and moderate expression in psoriasis lesions in comparison with healthy subjects. *Contact Dermatitis*. 2020 Jan 3. 2020 May;82 :297-306. **Q1, IF:6.6**
2. Meštrović Štefekov J, Lugović-Mihić L, Hanžek M, **Bešlić I**, Japundžić I, Karlović D. Salivary Cortisol Values and Personality Features of Atopic Dermatitis Patients: A Prospective Study. *Dermatitis*. 2022 Jan 25. **Q1, IF:5.185**
3. Blagec T, Glavina A, Špiljak B, **Bešlić I**, Bulat V, Lugović-Mihić L. Chelitis: a cross sectional study of multiple factors involved in its etiology and clinical features. *Oral Dis*. 2022 Aug 24. **Q1, IF: 4.068**
4. Cvitanović H, Milošević M, Bešlić I, Lugović-Mihić L. Determination of psychological stress, serum immune parameters, and cortisol levels in patients with human papilloma virus. *Clin Ther*. 2020 Apr 24. pii: S0149-2918(20)30184-3. doi: 10.1016/j.clinthera.2020.03.017. **Q1, IF:3.637**
5. Delaš Aždajić M, **Bešlić I**, Gašić A, Ferara N, Pedić L, Lugović-Mihić L. Increased Scabies Incidence at the Beginning of the 21st Century: What Do Reports from Europe and the World Show? *Life*. 2022; 12(10):1598. **Q1, IF: 3.253**
6. Ćesić D , Lugović-Mihić L, Ferček I, Gverić Grginić A, Jelić M, **Bešlić I**, Tambić Andrašević A. Salivary Microbiota is significantly less diverse in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria compared to Healthy Controls. *Life (Basel)*. 2021 Dec 1;11(12):1329. **Q1, IF: 3.253**
7. Ferček I, Lugović-Mihić L, Tambić-Andrašević A, Ćesić D, Grginić AG, **Bešlić I**, Mravak-Stipetić M, Mihatov-Štefanović I, Buntić AM, Čivljak R. Features of the Skin Microbiota in Common Inflammatory Skin Diseases. *Life (Basel)*. 2021 Sep 14;11(9):962. **Q1, IF: 3.253**
8. **Bešlić I**, Vučić M, Buljan M. The Mystery of “4M”: Metallosis mimicking melanoma metastasis. *Int J Dermatol*. 2022 Aug 10. **Q2, IF: 3.204**
9. Lugović-Mihić, L, Aždajić, MD, Filipović, SK, Bukvić, I, Prkačin, I, Grbić, D. Š., & Ličina, M. (2020). An Increasing Scabies Incidence in Croatia: A Call for Coordinated

Action Among Dermatologists, Physicians and Epidemiologists. *Zdravstveno varstvo*, 59(4), 264–272. **Q3,IF:0.732 /SSCI**

**Hrvatske publikacije:**

10. **Bešlić I**, Vrtarić A, Bešlić A, Škrinjar I, Crnković D, Lugović-Mihić L. Salivary melatonin values significantly correlate with reduced quality of life of chronic spontaneous urticaria patients: a pilot study – prihvaćen rad u *Acti Clinici Croatici*, 2022. **Q3, IF 0.91**
11. Jerković H, **Bešlić I**, Ćesić D, Šitum M. The psychosocial burden of urticaria RAD CASA – Medical Sciences. 548=56-57 (2021): 98-103. doi: 10.21857/9xn31cogdy
12. Lugović Mihić L, Delaš Aždajić M, **Bešlić I**. Scabies cases misdiagnosed and treated as allergic diseases: a case series. *Acta Clin Croat* 2022; 61:349-353. doi: 10.20471/acc.2022.61.02.22. **Q3, IF 0.91**
13. Lugović-Mihić L, Krišto M, Špoljar S, Novak-Bilić G, Bešlić I, Vučić M, Šitum M. Can skin be a marker for internal malignancy? Evidence from clinical cases. *Acta Clin Croat* 2021; 60:1-11. **Q3, IF 0.91**
14. Cvitanović H, **Bešlić I**, Lugović-Mihić L. How to Cope with Psoriasis: Data from Patient Tests and Surveys. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2020 Dec;28(3):141-147. **Q3, IF 1.256**
15. Stanić Duktaj S, Novak-Bilić G, Bradamante M, **Bukvić I**, Lugović-Mihić L1. Cutaneous pseudolymphoma: a case report. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2019;27(2):116-120. **Q3, IF 1.256**
16. Lugović Mihić L, **Bukvić I**, Bulat V, Japundžić I. Factors contributing to chronic urticaria/angioedema and nummular eczema resolution - which lab tests are crucial? *Acta Clin Croat* 2019; 58:595-603. **Q3, IF 0.91**
17. Lugović-Mihić L, Krišto M, Ferček I, **Bukvić I**, Duvančić T. Primjena omalizumaba kod kronične spontane urtikarije/angioedema: preporuke, iskustva i spoznaje. *Acta Med Croatica* 2018; 72:495-502.
18. **Bukvić I**, Bešlić A. Hitna stanja u ordinaciji dentalne medicine. *Vjesnik dentalne medicine*, 2016.

**Kongresni sažeci:**

1. Lugović-Mihić L, Novak-Bilić G, **Bešlić I**, Kuna M, Pondeljak N, Vučić M. Analysis of skin CD44 expression in patients with allergic and irritant contact dermatitis and vulgar psoriasis. EADV Spring Symposium 2022 in Ljubljana, 12-14 May 2022.
2. Ćesić D, Tambić Andrašević A, Ferček I, **Bešlić I**, Ilić I, Delaš Aždajić M, Lugović Mihić L. Association between salivary microbiota and chronic spontaneous urticaria: our results. 7. KONGRES HRVATSKIH DERMATOVENEROLOGA s međunarodnim sudjelovanjem 05.-08.05.2022., Vodice
3. Ferček I, Tambić Andrašević A, Ćesić D, Ferara N, Gverić Grginić A, **Bešlić I**, Čivljak R, Lugović Mihić L. Changes in the microbiome in patients with common inflammatory skin diseases. 7. KONGRES HRVATSKIH DERMATOVENEROLOGA s međunarodnim sudjelovanjem 05.-08.05.2022., Vodice
4. Delaš Aždajić M, Kosanović Ličina M, **Bešlić I**, Ilić I, Novak Hlebar I, Ćesić D, Lugović Mihić L. The trend of increased scabies occurrence – epidemiological data from Croatia. 7. KONGRES HRVATSKIH DERMATOVENEROLOGA s međunarodnim sudjelovanjem 05.-08.05.2022., Vodice
5. Glavina A, Biočina Lukenda D, **Bešlić I**, Lugović-Mihić L. Association between the concentrations of cortisol,  $\alpha$ -amylase, interleukin-6 in saliva with the psychological profile patients with oral lichen planus and burning mouth syndrome. 7. KONGRES HRVATSKIH DERMATOVENEROLOGA s međunarodnim sudjelovanjem 05.-08.05.2022., Vodice
6. Lugović-Mihić L, Cvitanović H, **Bešlić I**, Pondeljak N, Kuna M, Japundžić I. Determination of psychoneuroimmune factors in patients with HPV manifestations. EADV Spring Symposium (online), 06-07 May, 2021. Poster prezentacija. PO46.
7. Lugović-Mihić L, Pondeljak N, **Bešlić I**, Bulat V, Ferček I, Ćesić D. Influence of associated diseases on skin disease outcomes in patients with chronic urticaria and nummular eczema. 29th EADV Congress in Vienna, Austria, Oct 28- Nov 01 2020.
8. Lugović Mihić L, Duvančić T, Krišto M, **Bukvić I**, Ferček I, Požderac I. The impact of omalizumab treatment on quality of life in patients with chronic urticaria/angioedema. 28th EADV Congress in Madrid, Spain, 9-13 October 2019.

9. Pozderac I, Novak I, Lugović-Mihić L, **Bukvić I**, Bulat V, Ferček F. Udruženost urogenitalnih infekcija s kroničnom urtikarijom i ekcematoidnim dermatitisom: slučajnost ili etiopatogenetska povezanost? 11. hrvatski kongres o urogenitalnim i spolno prenosivim infekcijama s međunarodnim sudjelovanjem. Opatija, 10.-12.05.2019. Knjiga sažetaka
10. Novak-Bilić G, Stanić Duktaj S, Bradamante M, **Bukvić I**, Lugović-Mihić L. A case of cutaneous pseudolymphoma in a woman 6. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem. Pula, 04.-07.10.2018.
11. Lugović-Mihić L, Duvančić T, Bulat V, Krišto M, **Bukvić I**, Česić D. Omalizumab in our chronic urticaria/angioedema patients - how did it change their quality of life? 6. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem. Pula, 04.-07.10.2018.
12. **Bukvić I**, Bergman Marković B. Hiperkolesterolemija. Skačemo li na prvu loptu??? Četvrti kongres Društva nastavnika obiteljske medicine, DNOOM, Zagreb, 15.-17.03.2013.
13. **Bukvić I**, Bergman Marković B. Treba li pušača liječiti? Treći kongres Društva nastavnika obiteljske medicine, DNOOM, Zagreb, 10.-12.03.2012.

### **Predavanja:**

7. KONGRES HRVATSKIH DERMATOVENEROLOGA s međunarodnim sudjelovanjem 05.-08.05.2022., Vodice

1. **Iva Bešlić**, Liborija Lugović-Mihić, Sanja Špoljar, Ines Sjerobabski Masnec.

Melatonin – a possible role in the chronic spontaneous urticaria and other inflammatory skin disorders.

2. Mirela Krišto, **Iva Bešlić**, Liborija Lugović-Mihić. Urticaria/angioedema eczematous dermatitis and pruritus as paraneoplastic dermatoses: case reports.

5. KONGRES PSIHODERMATOLOGIJE S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM 02.-05.09.2021.

3. **Iva Bešlić**, Liborija Lugović- Mihić – Psychological characteristics and the most common psychological disorders in patients with chronic urticaria

4. Sanja Špoljar, **Iva Bešlić**, Nives Pondeljak, Lovre Pedić, Maja Mikulić. Psihološki čimbenici bolesnika koji utječu na zakašnjenje dijagnosticiranja tumora kože.

3. ZNANSTVENI SIMPOZIJ MULTIDISCIPLINARNIH TIMOVA ZA MELANOM 2021. 25-27.02.2021.

5. Sanja Špoljar, Nives Pondeljak, Lovre Pedić, **Iva Bešlić**: Važnost digitalne dermatoskopije s posebnim osvrtom na mapiranje cijelog tijela kao dijagnostičkom metodom ranog otkrivanja melanoma.

6. Sanja Špoljar, Lovre Pedić, **Iva Bešlić**, Nives Pondeljak: Može li nas anamneza bolesnika navesti na pogrešnu dijagnozu